

Hydroxypropyl- β -cyclodextrin 포접복합체 제조를 위한 초임계유체 공정 연구

이상윤* · 김정규 · 김우식* · 유종훈 · 임교빈†

수원대학교 공과대학 화공생명공학과
445-743 경기도 화성시 봉담읍 와우리 산2-2
*연세대학교 공과대학 화학공학과
120-749 서울시 서대문구 신촌동 134
(2004년 11월 8일 접수, 2004년 12월 10일 채택)

Study of a Supercritical Fluid Process for the Preparation of Hydroxypropyl- β -cyclodextrin Inclusion Complexes

Sang-Yun Lee*, Jeong-Kyu Kim, Woo-Sik Kim*, Jong-Hoon Ryu and Gio-Bin Lim†

Department of Chemical and Biochemical Engineering, The University of Suwon,
San 2-2, Wau-ri, Bongdam-up, Hwaseong, Gyeonggi 445-743, Korea

*Department of Chemical Engineering, Yonsei University, 134, Sinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-749, Korea
(Received 8 November 2004; accepted 10 December 2004)

요 약

초임계유체를 이용한 공정을 통하여 물에 대해 난용성 성질을 지니는 약물인 itraconazole과 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin(HP- β -CD)의 포접복합체를 제조하였다. 제조된 포접복합체는 SEM, DSC, XRD 등을 이용하여 고체상태의 특성 분석을 수행하여 itraconazole의 결정성적 특성이 HP- β -CD와의 포접체를 형성하며 무정질적으로 변화된 것을 확인할 수 있었다. pH 1.2의 인공위액을 이용하여 수행된 수용액 내에서의 포접복합체의 용해도 및 용출시험 결과 itraconazole 원제료에 비하여 20-200배 정도의 증가된 용해도 결과를 얻을 수 있었다. 초임계유체 공정을 통하여 얻어진 포접복합체의 용해도는 압력증가에 의한 이산화탄소 밀도 증가에 따라 증가하였으며 동일 조건에서 용액 중의 HP- β -CD의 함량이 높아질수록 증가하였다. 35 °C, 140 bar의 공정 조건에서 itraconazole과 HP- β -CD의 구성 몰비가 1:3 인 용액을 사용하였을 경우 itraconazole 원제료에 비하여 약 200배 이상의 용해도인 758.6 μ g/mL의 용해도를 지니는 포접복합체를 얻을 수 있었다. 용출시험 결과 투입 약물의 90% 이상이 용출 개시 5-10분 내에 용출되어 대조제로 사용한 시판제 및 원제료에 비하여 매우 빠른 초기 방출률과 우수한 용출 특성을 확인할 수 있었다. 본 연구를 통하여 기존의 시간소비용 및 다단계의 포접체 제조공정을 개선할 수 있는 한 방법으로 초임계유체 공정이 적용될 가능성을 확인할 수 있었다.

Abstract – In this work, solid-state inclusion complex powders of itraconazole and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) were produced by a supercritical anti-solvent (SAS) process. In order to evaluate the degree of complexation, the thermal behavior of the microparticulate complexes was investigated using differential scanning calorimetry. The experimental results obtained for the solubility and dissolution rate of the microparticulate inclusion complexes in a buffer solution of pH 1.2 showed that the complexation of itraconazole with HP- β -CD results in a significant increase in the solubility and dissolution rate of itraconazole. The particle size of the SAS-produced inclusion complexes was dramatically reduced (<0.1-0.5 μ m) compared with untreated itraconazole (30-50 μ m) and HP- β -CD (50-100 μ m). The solubility of itraconazole was increased with the increase of pressure at a constant temperature to ca. 758.6 μ g/mL in an aqueous medium of pH 1.2. The dissolution rate of itraconazole was observed to be significantly improved and about 90% of itraconazole was found to be dissolved within 5-10 min.

Key words: Itraconazole, Cyclodextrin, Inclusion Complex, Supercritical Fluid, Anti-Solvent

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: gblim@suwon.ac.kr

*이 논문은 연세대학교 김우식 교수의 정년을 기념하여 투고되었습니다.

1. 서 론

수용액상에서 낮은 용해성을 지니는 약물들은 생체내로 투여할 경우 난용성 약물의 수용액 상에서의 낮은 용해성과 느린 용해 속도로 인하여 약물의 생체 조직으로의 전달이 효율적이지 못하며 이로 인한 저조한 생체 이용률이 문제시되며 제제 설계에서 매우 중요한 인자로 작용하게 된다. 이러한 난용성 약물의 물에 대한 용해성을 증가시킴으로써 생체 이용률을 향상시키려는 많은 노력이 다양한 방법을 통하여 개발되어 왔으며 그중 사이클로덱스트린(cyclodextrin, CD)과 그 유도체들을 이용한 복합체를 형성하는 방법은 매우 유용한 방법으로 인지되어 지고 있다[1]. 사이클로덱스트린은 6 내지 7개의 포도당 분자들이 환상으로 연결되어 입체적 특이성을 지니는 거대 분자로 구조를 구성하는 포도당 분자의 개수에 따라 α -, β -, γ -CD로 구분된다. CD는 환상의 고리구조를 지니고 있어 포도당 결합수에 따라 α -CD의 경우 4.7-5.3 Å, β -CD의 경우 6.0-6.5 Å, γ -CD의 경우 7.5-8.3 Å의 각각 다른 크기의 내부 공동(cavity)을 지니고 있다. 또한, CD의 내부는 수소결합과 에스테르결합으로 인하여 소수성을 지니고 동시에 CD를 구성하는 포도당의 외부로 노출되어있는 C6 위치에 있는 수산기(hydroxyl group)로 인하여 친수성의 성질을 동시에 지니고 있다[2]. 이러한 구조적 입체 특이성과 친수성 및 소수성을 동시에 지니고 있는 성질로 인하여 다양한 소수성 물질에 대하여 포접복합체(inclusion complex)를 형성하며 이러한 포접능을 활용한 식품, 화장품 및 의약품 등 다양한 산업분야에 적용되고 있다. 소수성의 외부 물질(guest)은 CD(host)의 내부 공동의 소수성 부분과 소수성 효과, van der Waals 결합, 수소결합 및 CD 공동내의 고 에너지 분자의 방출에 의한 에너지 감소 등의 작용 등으로 인하여 포접체를 형성하게 되며 수용액상에서의 용해성 및 guest 물질의 안정성 등을 향상시키는 등 포접된 물질의 물리적, 화학적 물성의 변화를 유도할 수 있다[2, 3]. CD를 이용한 복합체의 형성 과정에 있어 가장 큰 요인으로는 포도당분자의 구성 수에 따라 각각 다른 공동 크기를 지니는 α -, β -, γ -CD의 구조적 입체 특이성으로 guest 분자에 따라 선택적인 포접체를 형성 할 수 있다[4].

CD를 이용한 포접체를 형성하는 일반적인 방법으로는 Fig. 1에 제시된 바와 같이 CD를 용해시킨 수용액상에서 과량의 guest 물질을 가하고 교반 등을 통하여 포접체를 형성하고 여과와 건조 등을 통한 포접체를 제조하는 방법이 있으며 이외에 co-precipitation, slurry complexation, paste complexation, damp mixing and heating, melt and extrusion 등의 다양한 방법[4]이 있으나 용융법의 경우 높은 온도의 작업 조건으로 인한 약물의 안정성에 미치는 영향 및 공정조작의 어려움 등의 문제점이 있으며 이외의 대부분 공정의 경우 긴 작업 시간 및 건조 시간이 요구되며, scale-up의 어려움 등 공정상의 문제점 등을 지니고 있어 이를 해결하기 위한 기술의 개발이 요구되고 있다.

본 연구에서 난용성 약물로 선정된 이트라코나졸(itraconazole)은 백선균속, 소아포균속, 포피사상균속 등의 피부사상균, 칸디다균속, 피티로스포름속 등의 효모균과 이스트필루스균속 및 여러 병원성 진균의 감염에 효과적인 치료효과를 보이는 트리아졸계 광범위 항진균제이다[5, 6]. 이트라코나졸은 높은 지질친화력을 지니고 있어 혈중으로부터 생체 조직 깊숙이 축적되며, 특히 피부에서 혈중에서 보다 4배 높은 농도를 유지함으로써 표재성 및 심재성 사상균증에

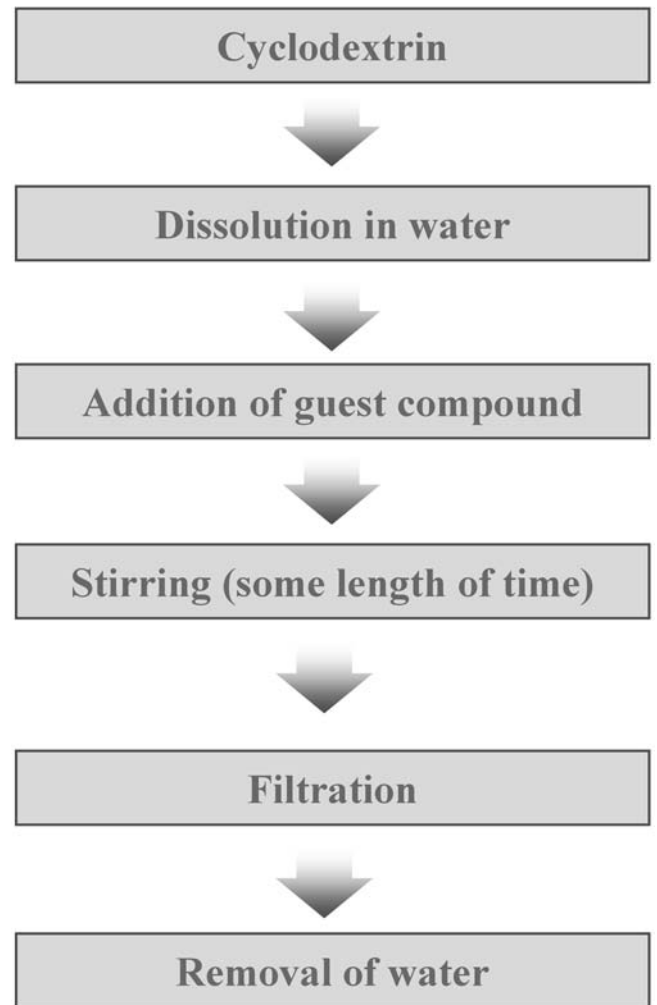


Fig. 1. A typical procedure for the preparation of CD complexes.

탁월한 약효를 보이는 약물이나 높은 지질친화성과 약한 염기성의 특징으로 인하여 산성 조건의 수용액에서만 미량으로 용해되어 약물을 그 자체로 경구 투여하는 경우 위액 내에서의 낮은 용해 속도가 전체 약물 흡수 과정의 율속 단계로 작용하여 체내에서의 흡수는 거의 이루어지지 않아 매우 낮은 생체이용률을 나타낸다[7]. 이러한 수용액 상에서의 낮은 용해성의 문제를 해결하기 위한 다양한 가용화 기술 중 대표적인 제제 형태로는 600-700 μm 의 지름을 지니는 당핵(sugar sphere) 표면에 유기용매에 용해시킨 이트라코나졸과 수용성 고분자인 hydroxy-propylmethylcellulose(HPMC)층을 형성시켜 비드형태로 제조한 제제를 캡슐제제로 생산하는 공정과 수용성 고분자와 이트라코나졸을 140-160 $^{\circ}\text{C}$ 정도의 온도에서 용융시킨 후 혼합하여 고체형태로 제조한 고체용액 상태로 제조한 용융사출 공정[8, 9], CD를 이용한 액체 형태의 경구용 및 주사제용 제제 등이 있다. 캡슐의 경우 생체이용률이 위내 산도의 영향을 많이 받으며[10-12], 용융사출 공정의 경우 140 $^{\circ}\text{C}$ 이상의 높은 제조 온도로 인한 열에 민감한 약물의 변형 등이 우려되며 용융 및 혼합단계에서 약물을 매우 균일하게 분산시켜야 한다는 공정상의 어려움, 용융되지 않은 이트라코나졸이 잔존할 경우 최종제품의 성능에 미치는 영향 등 여러 가지 문제점을 내포하고 있다. 이렇듯 가용화된 이트라코나졸 제제를 제조하기 위한 대부분의 공정이 다단계의 복잡

한 공정으로 구성되어 있거나 공정제어에 많은 주의가 요구된다. 특히, CD와 그 유도체들을 이용한 포접체의 형성을 위해 수용액 상태에서 기본적인 공정이 이루어지는 경우가 대부분이기 때문에 긴 포접체 형성 시간 및 건조 시간, 과량의 약물 사용, scale-up의 어려움 등을 내포하고 있어 이를 개선하기 위한 방법이 요구되고 있다.

본 연구에서는 초임계 상태의 이산화탄소를 역용매(anti-solvent)로 사용한 SAS(supercritical anti-solvent) 공정을 이용하여 대표적 난용성 약물인 이트라코나졸과 가용화를 위해 사이클로덱스트린 유도체인 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin(HP- β -CD)을 이용하여 이트라코나졸의 수용액상에서의 용해도를 증가시킴으로써 약물의 생체 이용률을 현저히 향상시킬 수 있는 이트라코나졸/HP- β -CD 포접복합체 미세입자를 제조하고 초임계 공정조건에 따른 입자형성 및 용출 특성의 변화를 관찰하여 초임계유체 공정기술을 포접복합체 미세입자의 제조공정에 적용하기 위한 기초 연구를 수행하였다. 임계점(critical point) 이상의 온도와 압력에서 존재하는 유체로서 정의되는 초임계유체는 액체에 근접한 정도까지의 밀도 특성 및 용해능력을 지니고 동시에 기체와 유사한 낮은 점도, 높은 확산계수 및 매우 낮은 표면장력 등 빠른 물질전달 특성을 지닐 수 있어 추출, 반응, 분리, 세정 및 미세입자의 제조 등 다양한 분야로의 응용에 관한 연구가 진행되어 지고 있다. 특히, 초임계유체가 지니는 낮은 조업 온도 조건과 기존의 방법에 비하여 매우 빠른 과포화 조건 형성 및 균일한 결정 생성 조건 형성 등의 장점으로 인하여 지난 수년간

나노 및 마이크로 수준의 미립자 제조 및 생분해성 고분자와의 고체 분산체 제조 등을 통한 생체내에서 약물방출 속도를 제어하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.

2. 실험

2-1. 실험재료

본 연구에서 사용된 난용성 약물인 이트라코나졸은 (주)중외제약으로부터 공급받아 후속 정제 과정 없이 사용하였으며 이트라코나졸과의 포접체 형성을 위한 사이클로덱스트린은 hydroxypropyl group으로 치환된 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin(HP- β -CD, Aldrich, USA)을 사용하였으며, HP- β -CD 내의 hydroxypropyl기의 몰치환도(molar degree of substitution, MS)는 0.6이었다. 초임계유체로는 99.95% 순도의 이산화탄소를 사용하였으며 이트라코나졸과 HP- β -CD를 용해시키기 위한 용매로는 각각 methylene chloride와 ethanol을 선정하였으며, 상기 용매는 Fisher사의 HPLC급 시약을 구입하여 사용하였다.

2-2. 초임계유체 공정을 이용한 포접복합체 미세입자 제조

이트라코나졸과 HP- β -CD의 포접체 형성을 위한 SAS 공정의 개략도는 Fig. 2에 제시된 바와 같이 초임계유체로 선정된 이산화탄소를 공급하기 위한 고압 펌프, 용액의 주입 및 분사를 위한 고압

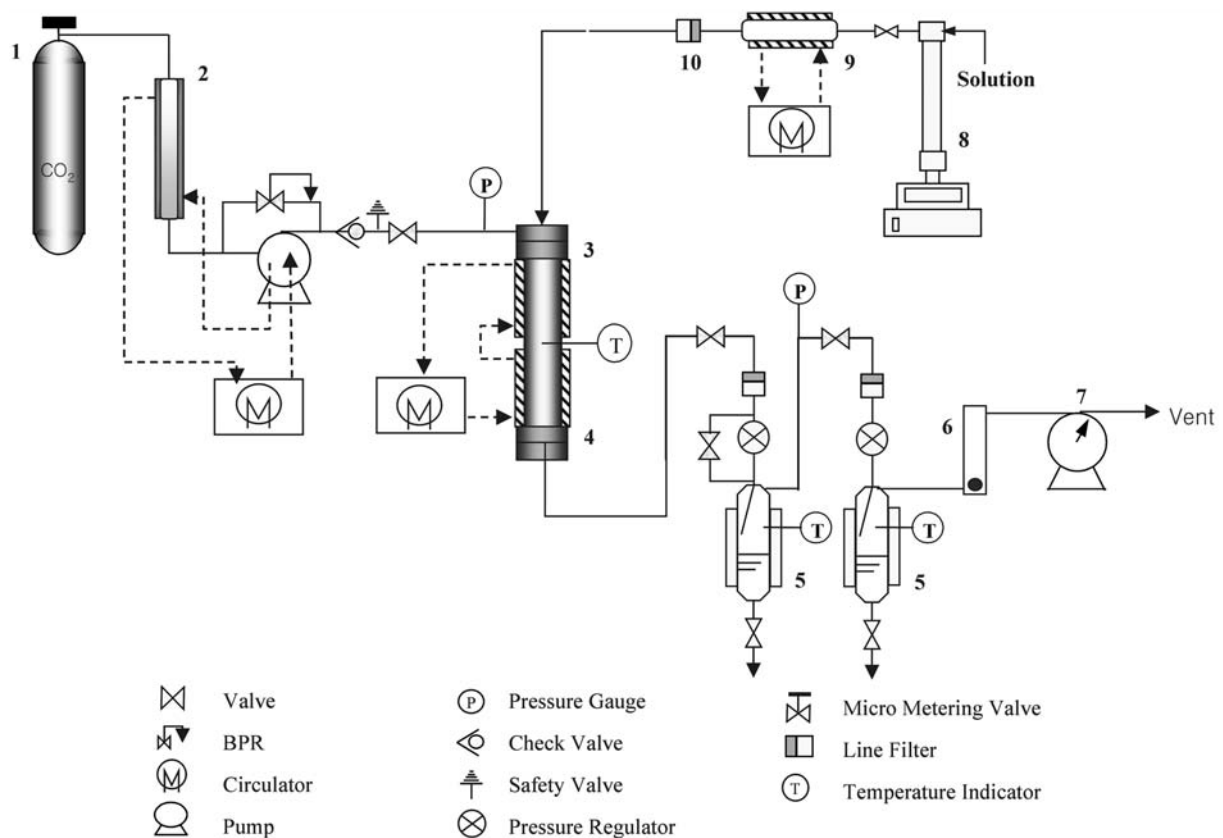


Fig. 2. Schematic diagram of the supercritical anti-solvent (SAS) process used in this study.

- | | |
|-----------------------------|------------------------|
| 1. CO ₂ cylinder | 6. Rotameter |
| 2. CO ₂ cooler | 7. Dry tester meter |
| 3. Precipitator | 8. Syringe pump |
| 4. Filter system | 9. Solution pre-heater |
| 5. Sampling tank | 10. Line filter |

정량펌프 및 노즐, 입자 형성이 일어나는 고압 침전기 등으로 구성되어있다. 액화 상태의 이산화탄소는 후방압력조절기(back-pressure regulator, 26-1700, Tescom, USA)에 의해 일정한 압력으로 조절되면 액체 고압 펌프(Lewa, EL-1, Germany)에 의해 고압 침전기의 상단으로 이송되어 연속적으로 공급되어진다. Methylene chloride와 ethanol의 혼합용액에 완전히 용해되어진 일정 물비의 이트라코나졸과 HP- β -CD를 포함하는 혼합용액은 주사형 고압 정량펌프(syringe pump, 100DX, ISCO, USA)에 의해 침전기의 상단에 장착되어진 내경 127 μm 의 노즐로 공급되어 침전기 내부의 초임계 이산화탄소상으로 연속적으로 분사되도록 설계되었다. 노즐을 통하여 분사된 혼합용액 액적(droplet)은 초임계상태 이산화탄소와의 접촉을 통하여 유기용매와 이산화탄소간의 단일상을 형성하게 되며 용매의 용해력 저하를 초래하게 되며 빠른 속도로 과포화(supersaturation) 상태를 형성하게 된다. 이러한 과포화 상태를 거치며 이트라코나졸과 HP- β -CD의 포접복합체가 분체상태로 형성되며 침전되어진다. 침전기 하단에는 0.5 μm 의 공극을 지니는 금속 필터를 장착하여 침전되어진 결과물의 수집이 이루어지도록 하였다. 이때, 사용된 용매는 침전기 이후에 구성된 용매 회수부에서 이산화탄소의 감압에 따라 자발적인 분리와 회수가 이루어지도록 하였다.

2-3. 포접복합체 특성 분석

제조된 분체상태의 포접복합체는 주사전자현미경(scanning electron microscope, SEM, JSM-5200, JEOL, USA)으로 입자의 크기 및 형상을 관찰하였으며, 시차주사열량계(DSC, DSC2010, TA Instrument, USA)와 X-선 회절분석기(XRD, D8 Advance, Bruker AXS, German)를 사용하여 포접체의 열적 특성과 결정성 변화를 검토하였다. 고체상태의 특성 검토 비교를 위하여 이트라코나졸과 HP- β -CD 원료 물질 및 물리적 혼합물(physical mixture)을 동시에 측정하여 비교 대상으로 하였다.

2-4. 인공위액에서의 포접복합체 용해도 및 *in vitro* 약물 방출

SAS 공정을 이용하여 제조된 이트라코나졸/HP- β -CD 포접복합체는 수용액상에서의 용해력과 인공위액 내에서의 이트라코나졸의 용출 특성을 검토하였다. 포접체 형성을 통한 용해도 향상 정도는 인공위액에 대하여 측정하였다. 인공위액 3 mL에 과량의 이트라코나졸(약 25 mg)에 해당하는 포접체 분체를 가하고 밀봉한 후 약 20분간 초음파 처리 후 25 $^{\circ}\text{C}$ 의 항온조에서 24시간 100 rpm으로 교반하며 방치하여 충분한 포화상태를 이루도록 하고 다시 24시간을 교반없이 방치하여 과포화상태를 벗어날 수 있도록 하였다. 평형상태에 이른 혼탁 용액은 4,000 rpm으로 15분간 원심분리 후 용액 상단 부분을 분취하여 0.45 μm 멤브레인필터(Waters, USA)를 이용하여 여과하고 HPLC를 이용하여 용액내의 이트라코나졸 함량을 분석하였다.

인공위액에서의 이트라코나졸의 용출시간과 용출률을 평가는 대한약전 용출시험법 중 제1법인 회전검체통법에 준하여 수행하였으며, 용출 특성 비교를 위하여 이트라코나졸 원재료 및 이트라코나졸/HP- β -CD의 물리적 혼합물과 대조제로서의 현재 시판 중인 스폐라녹스 캡슐(SporanoxTM Capsule, Janssen Pharmaceutica)에 대한 용출 시험을 동시에 수행하여 SAS 공정에 의해 제조된 포접복합체의 용출성과 비교하였다. 용출 시험은 대한약전에 규정된 봉쇄시험법의 제1액인 pH 1.2의 인공위액 900 mL를 사용하여 용출 시험기(DST-810, Lab Fine, Korea)를 이용하여 37 \pm 0.5 $^{\circ}\text{C}$ 의 항온 조건에

서 100 rpm의 패들 회전속도로 용출 실험을 수행하였다. 이트라코나졸 100 mg에 해당하는 용출 시험 대상 시료를 인공위액에 투입하고 100 rpm으로 교반을 하면서 일정한 시간 간격으로 용출액을 3 mL씩 취한 후 0.45 μm 의 평균 기공을 갖는 분리막(membrane)으로 여과하여 검액 하였으며, 시료를 채취한 후 동일 양의 용출 용매를 보충하였다.

용출액 중의 이트라코나졸 함량을 측정은 HPLC(600 Series with 717 Autosampler, Waters, USA)를 이용하여 분석하였으며, 분석에 사용된 칼럼으로는 ODS Hypersil(5 μm , 150 \times 4.6 mm, Thermo Electron, USA)을 사용하였다. 이동상은 acetonitrile과 0.05%(v/v) diethylamine 수용액을 80:20(v/v)의 비율로 혼합하여 1.0 mL/min의 유속으로 사용하였으며, 262 nm의 파장에서 검출하여 미리 작성된 표준 곡선을 이용하여 이트라코나졸의 용출률을 계산하였다.

3. 결과 및 고찰

SAS 공정을 통한 얻어진 포접체의 특성 비교를 위해 포접체 제조 이전의 이트라코나졸 및 HP- β -CD 원료물질과 간단한 혼합을 통한 물리적 혼합물에 대한 고체 상태의 특성 분석과 pH 1.2의 인공위액상에서의 용해도 및 용출 특성을 검토하였다. Fig. 3에는 원료 물질인 이트라코나졸 및 HP- β -CD와 1:2의 물비로 혼합되어진 물리적 혼합물에 대한 전자주사현미경(SEM) 측정을 통해 얻어진 입자 형상을 나타내었다. 이트라코나졸 원료 입자의 경우 수십 μm 크기의 막대 형상을 가지며(Fig. 3(a)), HP- β -CD의 경우 구형에 가까운 50-100 μm 크기의 형상(Fig. 3(b))을 보이고 있음을 알 수 있었다. 이트라코나졸/HP- β -CD의 물리적 혼합물(Fig. 3(c), (d))의 경우 구형형태의 HP- β -CD의 분쇄는 거의 일어나지 않았으나 상대적으로 얇은 막대형태의 이트라코나졸은 막자를 이용한 혼합과정 중에서 물리적 충격에 의한 분쇄가 되어 입자 크기가 감소하였다(Fig. 3(d)). 그러나 분쇄된 이트라코나졸은 Fig. 3(c)에 제시된 것처럼 구형의 HP- β -CD의 표면상에 부착되어 있는 모습을 보여 이트라코나졸과 HP- β -CD 분자간의 포접체 형성은 이루어지지 않은 형상을 보였다.

SAS 공정은 35-65 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도범위와 83-140 bar의 압력범위에서

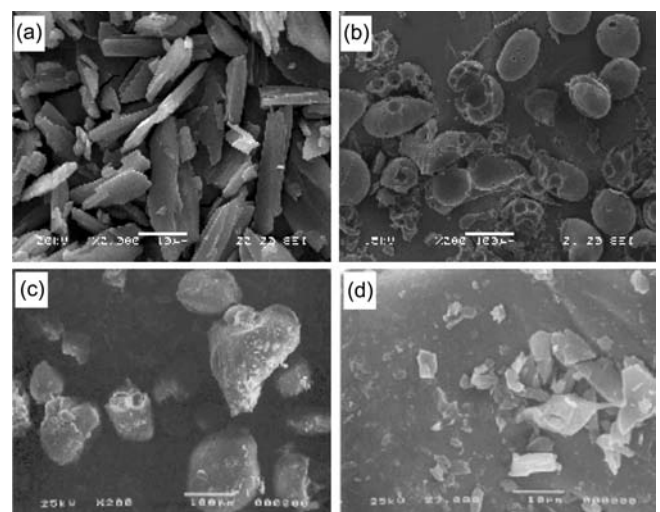


Fig. 3. SEM micrographs of (a) itraconazole, (b) HP- β -CD, (c) a physical mixture of 1:2 molar ratio (ITR:HP- β -CD), and (d) the same as (c) ($\times 2,000$).

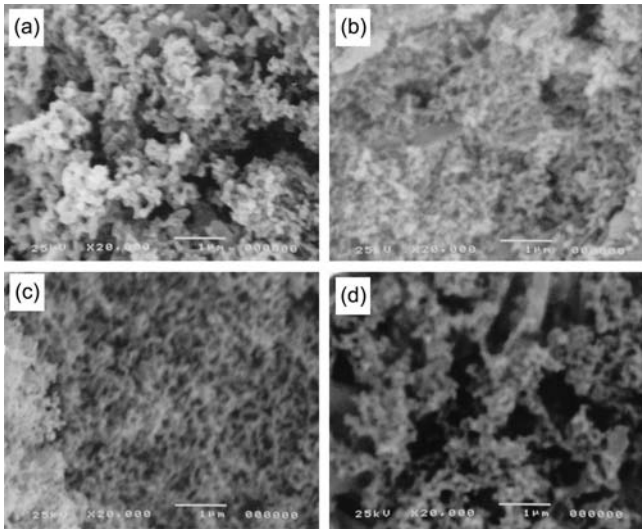


Fig. 4. SEM micrographs of SAS-processed itraconazole/HP- β -CD inclusion complex microparticles; (a) 35 °C, 83 bar; (b) 45 °C, 100 bar; (c) 55 °C, 125 bar, and (d) 65 °C, 140 bar.

수행되었으며 이산화탄소와 혼합용액의 주입 유량은 각각 39 g/min과 0.5 mL/min으로 유지하였다. SAS 공정을 이용한 포접복합체의 제조 실험은 이트라코나졸과 HP- β -CD의 몰비를 1:2로 유지하고 methylene chloride와 ethanol을 1:2의 부피비로 섞은 혼합용매를 사용하여 3 wt% 농도의 혼합용액을 제조하여 실험하였다.

수행된 SAS 공정을 통하여 얻어진 이트라코나졸/HP- β -CD의 복

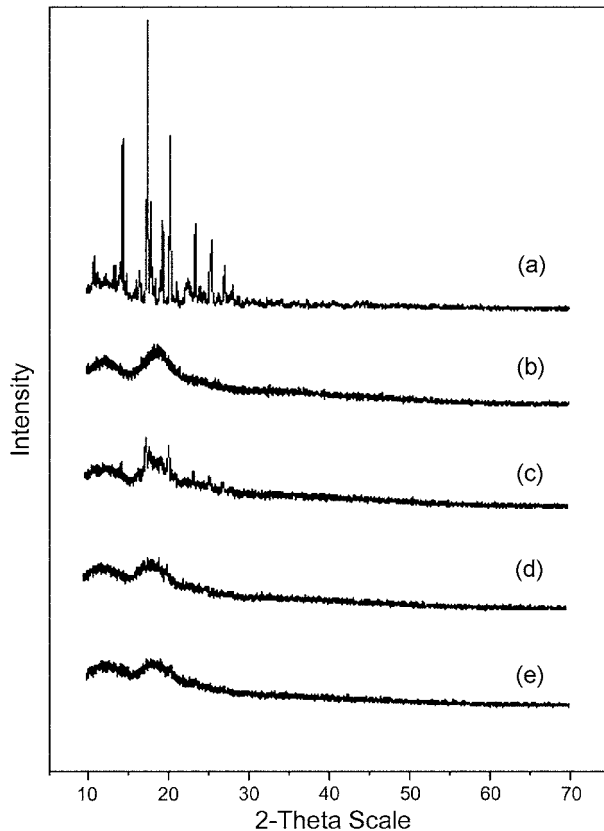


Fig. 5. XRD data for (a) itraconazole, (b) HP- β -CD, (c) a physical mixture of ITR/HP- β -CD (1:2 mol/mol), and (d) inclusion complex powder prepared by SAS process at 35 °C and 140 bar.

합체는 전반적으로 Fig. 4에 제시된 바와 같이 0.2-0.5 μ m의 크기를 지나는 단위 구성 입자들이 약하게 연결되어있는 형상을 보였으며 원료물질에 비하여 현저한 크기 및 형상 변화가 있음을 확인하였으나 온도 및 압력의 공정 조건 변화에 따른 기본적 구조 변화는 관찰되지 않았다.

Fig. 5에는 포접체 형성 이전의 각 원료물질과 이들의 물리적 혼합물의 XRD 분석결과를 나타내었다. XRD 결과에서 알 수 있듯이 이트라코나졸 원료 물질은 10-30°의 2 θ 범위에서 특성 피크들이 높은 감도로 나타났으며 결정성의 특성을 보여주고 있었다. 이에 비하여 HP- β -CD의 경우 결정성의 특정 피크들이 측정 전 범위에서 나타나지 않으며 10-25°의 범위에서 넓은 두 개의 띠 분포를 나타내고 있어 무정질 적인 특성을 보이고 있음을 확인하였다. 이트라코나졸과 HP- β -CD의 혼합 몰비를 1:2로 한 물리적 혼합물의 경우 Fig. 5(c)에 나타난 바와 같이 HP- β -CD와 이트라코나졸의 특성 피크들이 중첩되어진 모습을 보여 완전한 포접체의 형성을 이루어지지 못했음을 확인하였다. 이에 반하여 SAS 공정을 통하여 얻어진 이트라코나졸/HP- β -CD 복합체들 Fig. 5(d)에서 나타내어진 것 같이 이트라코나졸의 특성 피크들이 감소 또는 소멸함을 확인 할 수 있었으며 다양한 물질과 CD 간의 포접체 형성에 관한 다른 연구에 대한 결과와 동일하였다. DSC 분석을 통한 열적 특성 분석을 통해서도 이트라코나졸과 HP- β -CD 간의 포접체 형성 여부를 확인할 수 있었다. Fig. 6에 제시된 열분석 결과에서 알 수 있듯이 이트라코나졸 원말의 경우 결정의 녹는점에 해당하는 168 °C 부근에서 흡열 피크가 존재했으며, HP- β -CD의 경우 수화물의 형태로 존재하는 물이 빠져 나가면서 나타나는 사이클로텍스트린의 전형적인 흡열 피크가 넓은 온도 범위에 걸쳐 나타났다. 또한, 유발을 이용한 이들의 단순한 물

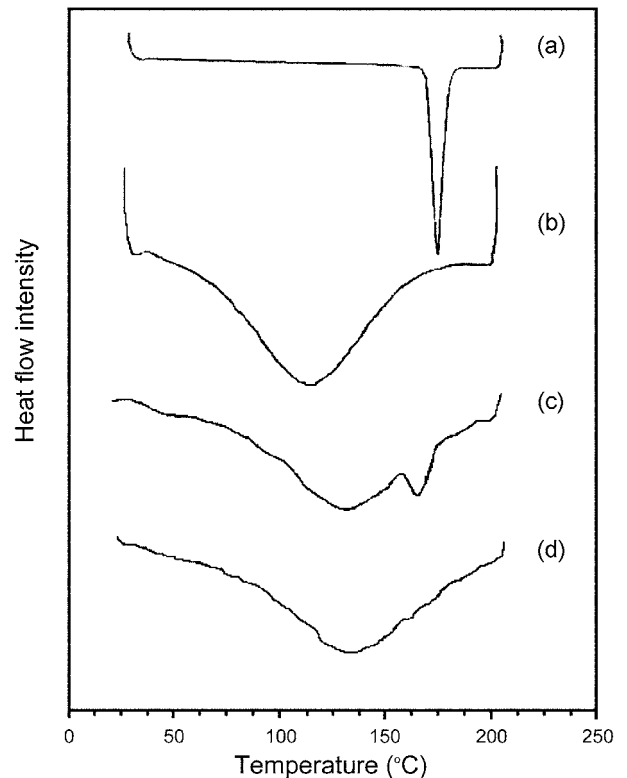


Fig. 6. DSC thermograms of (a) itraconazole, (b) HP- β -CD, (c) a physical mixture of ITR/HP- β -CD (1:2 mol/mol), and (d) inclusion complex powder prepared by SAS process at 35 °C and 140 bar.

리적 혼합물의 경우(Fig. 6(c)) 100-160 °C의 온도 범위에 걸쳐 두 원료물질의 흡열 특성에 의한 두 개의 흡열 피크가 여전히 존재하고 있음을 알 수 있었으며 이트라코나졸의 용점에 해당하는 흡열피크의 크기가 다소 감소한 흡열피크의 존재를 확인할 수 있었으며 이는 이트라코나졸과 HP- β -CD 간의 표면상에서의 일부 이트라코나졸의 무정형 복합체가 형성되었기 때문인 것으로 생각된다. SAS 공정에 의해 형성된 이트라코나졸/HP- β -CD 포접복합체 미세입자의 열분석 결과는 Fig. 6(d)에 나타난 것처럼 168 °C 부근에서 나타내었던 이트라코나졸의 흡열피크가 사라짐을 확인할 수 있어 SAS 공정을 통하여 이트라코나졸과 HP- β -CD 간의 포접체 형성을 이룸으로써 결정질의 이트라코나졸의 특성들이 소멸되며 무정질의 특성을 지님을 확인할 수 있었다. 이 또한 케토코나졸(ketoconazole), 이부프로펜(ibuprofen) 등의 난용성 약물에 대해 수행된 수용액상에서의 포접복합체 형성에 관한 연구 결과[13]와 매우 유사하여 기존의 수용액상에서 제조된 포접복합체의 특성을 초임계유체를 이용한 공정을 통해서도 얻을 수 있음을 시사한다.

SAS 공정을 통하여 얻어진 이트라코나졸/HP- β -CD 포접체의 수용액상에서의 특성을 검토하기 위하여 수용액상에서의 용해도 향상 정도와 *in vitro* 용출 시험을 통한 용출 특성을 검토하였다. 이트라코나졸은 위에서 위산에 의해 용해된 후 위점막을 통해 흡수된 후 생체 조직으로 전달되는 약물로 용해성 측정은 pH 1.2의 인공 위액에서 측정하였으며 *in vitro* 용출시험은 대한약전의 용출 시험법 중 제1법인 회전검체통법에 준하여 수행하였다. 또한, 포접복합체의 용해도 및 용출 특성의 비교를 위하여 동일한 시험 조건에서 이트라코나졸 원재료와 물리적 혼합물 및 이트라코나졸을 함유하고 있는 시판 제제인 스폐라눅스 캡슐에 대한 측정도 동시에 측정하였다. 용해도 측정 결과 이트라코나졸 원재료의 pH 1.2에서의 용해도는 3.7 $\mu\text{g/mL}$ 로 매우 낮은 용해도를 보였으며 이트라코나졸과 HP- β -CD를 1:2의 몰비로 혼합한 물리적 혼합물의 경우 동일한 조건에서 67.4 $\mu\text{g/mL}$ 의 이트라코나졸 용해도를 보여 원재료에 비하여 약 18배 용해도가 증가하였으나 매우 낮은 용해도를 나타내었다. 반면에 SAS 공정을 통하여 얻어진 이트라코나졸/HP- β -CD 포접체의 Fig. 7에 제시된 바와 같이 SAS 공정의 온도 및 압력 조건에 따라 80.1-341.1 $\mu\text{g/mL}$ 의 용해도를 보였으며 이는 이트라코나졸 원재료의 용해도에 비하여 22-92배 정도 증가한 것이며 물리적 혼합물에 비하여 1.2-5.1배 증가한 결과이다. 이는 SAS 공정을 통하여 HP- β -CD에 의한 이트라코나졸의 포접체 형성이 이루어졌음을 알 수 있었으며 포접체 형성을 통하여 수용액상에서의 기용화가 현저히 증가하였음을 확인하였다. 특히 용해도 증가 정도는 실험이 수행되어진 온도 범위에서 비교적 낮은 온도 조건인 35 °C에서 크게 나타났으며 SAS 공정의 압력조건이 증가 할수록 선형적인 용해도 증가 경향을 보였다. 이는 동일 온도 조건에서 압력의 증가에 따라 역용매로 사용된 초임계 이산화탄소의 밀도가 증가하게 되며 이로 인해 용매에 대한 이산화탄소의 용해력의 증가가 수반되며, 보다 빠른 과포화상태를 유도함으로써 미세 포접체 입자의 형성에 유리한 조건을 형성하는 것으로 추정 되어진다. Fig. 8에는 SAS 공정의 온도, 압력 영향 검토에서 가장 높은 포접 경향과 용해도의 결과를 얻은 35 °C, 140 bar의 조건에서 이트라코나졸과 HP- β -CD의 혼합물비를 1:1-1:3로 변화하며 얻어진 포접화합물에 대한 용해도 측정결과를 제시하였다. 포접화합물의 용해도는 용액 내의 HP- β -CD 함량이 증가할수록 증가하는 경향을 보였으며 1:3의 몰비 구성을 지닌 용액

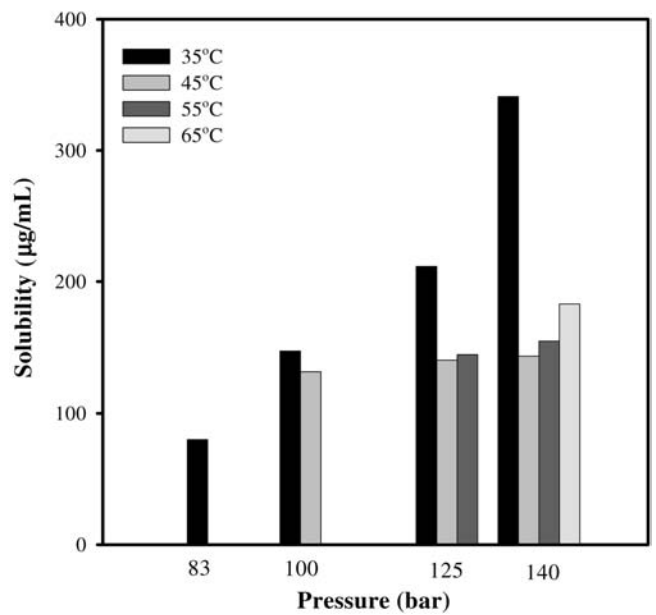


Fig. 7. Effect of temperature and pressure on the solubility of itraconazole in a simulated gastric juice (pH 1.2) at 25 °C.

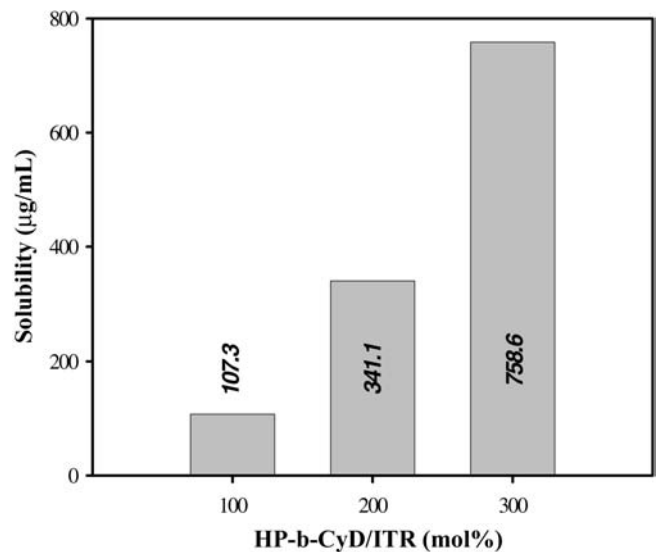


Fig. 8. Effect of HP- β -CD content on the solubility of itraconazole in a simulated gastric juice (pH 1.2) at 25 °C.

으로부터 얻어진 포접화합물의 경우 758.6 $\mu\text{g/mL}$ 의 용해도를 보여 1:2의 몰비에 비하여 2배 이상의 용해도 증가를 나타내었다.

Fig. 9-10에는 이트라코나졸 원재료, 물리적 혼합물 및 시판제제와 35 °C의 조건에서 SAS 공정을 통하여 제조된 포접화합물들에 대한 용출 비교를 나타내었다. Fig. 9에 나타난 것과 같이 2시간의 용출 시간 동안 이트라코나졸 원재료는 인공위액으로 용출되는 정도는 거의 없었으며, 물리적 혼합물의 경우도 약 10% 정도 매우 낮은 용출 특성을 보였다. 이에 비하여 대조 제제로 사용한 스폐라눅스 캡슐의 경우 시간이 경과함에 따라 점진적인 용출 경향을 보이며 용출시간 120분까지 약 84% 정도의 용출률을 나타내었으나 초기 20분간 방출 정도가 약 18% 정도로 빠른 약물의 방출이 이루어져야 하는 속방성적인 이트라코나졸 약물의 요구특성에 비추어 초기 약물 용출률이 다소 낮은 것을 확인할 수 있었다. 반면에 SAS

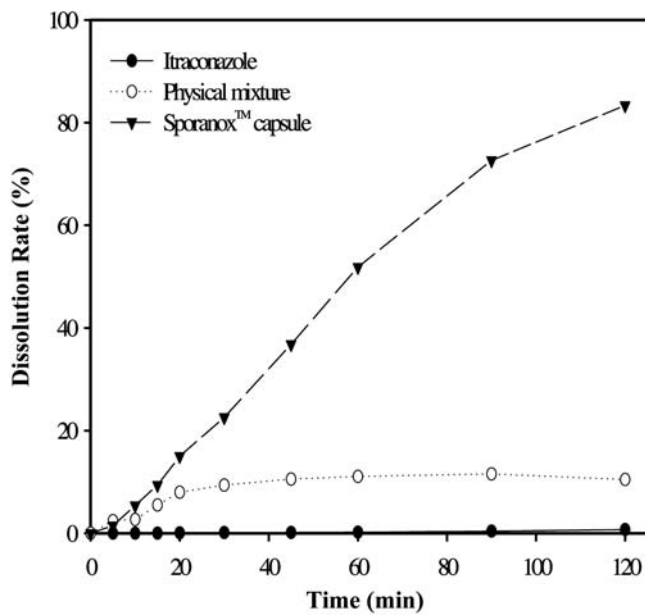


Fig. 9. *In vitro* dissolution profiles obtained at 37 °C using a buffer solution of pH 1.2 for the original itraconazole, a physical mixture of itraconazole/HP-β-CD, and Sporanox™ capsule.

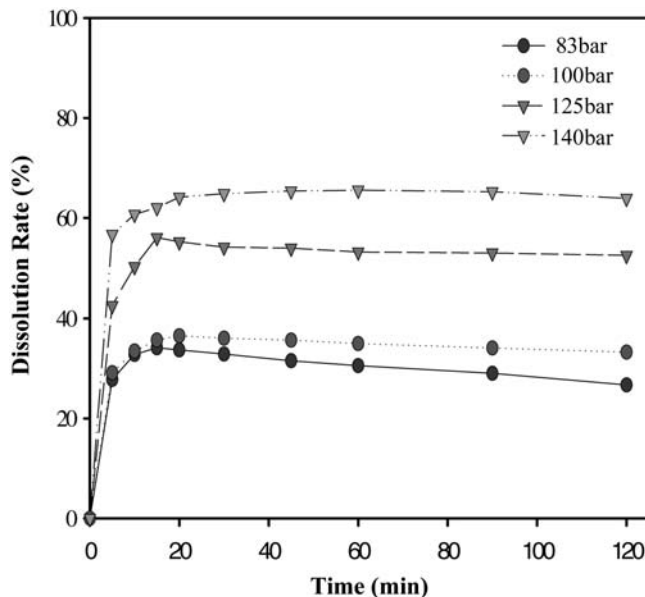


Fig. 10. *In vitro* dissolution profiles obtained at 37 °C using a buffer solution of pH 1.2 for various SAS-processed itraconazole/HP-β-CD inclusion complexes prepared at 35 °C and different operating pressures.

공정에 의해 제조된 이트라코나졸/HP-β-CD 포접복합체 미세입자의 경우 Fig. 10에서 나타난 바와 같이 투입된 이트라코나졸 약물의 30-64%에 해당하는 이트라코나졸이 용출까지 5-10분 사이에 방출되었으며 초기에 용출된 약물의 양은 해당 시료가 용출시간 120분 동안 방출된 총 약물량의 90-100%에 해당되는 양으로 매우 빠른 초기 용출특성을 나타내었다. SAS 공정을 통하여 얻어진 포접화합물의 용출률은 Fig. 11에 나타난 용출시험 결과처럼 이트라코나졸에 대하여 HP-β-CD의 함량이 증가된 용액으로부터 얻어진 포접체의 경우가 증가된 용출 경향을 나타내어 이트라코나졸/HP-β-CD의 물비가 1:3인 용액으로부터 얻어진 포접화합물의 경우 투입 약

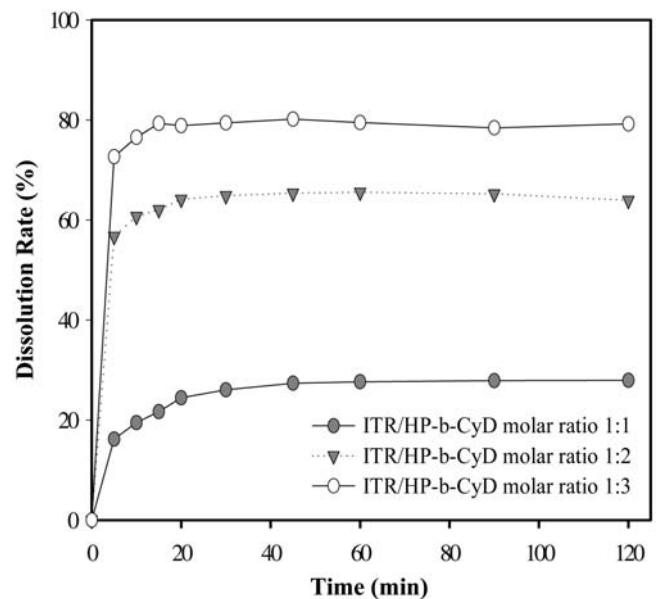


Fig. 11. *In vitro* dissolution profiles obtained at 37 °C using a buffer solution of pH 1.2 for SAS-processed itraconazole/HP-β-CD inclusion complexes prepared at 35 °C and 140 bar with different molar ratios of itraconazole and HP-β-CD.

물의 약 80%에 해당하는 용출률을 보였으며 초기 5-15분 내에 총 방출량의 90-100%의 매우 빠른 용출 속도를 확인할 수 있었다. 이는 대조제제의 용출경향과 비교할 때 120분간 총 약물의 방출량은 약 80% 정도로 유사하였으나 SAS 공정을 통한 포접화합물의 경우 5-15분내에 대부분의 약물이 방출되어 초기방출이 매우 향상된 제제의 제조가 가능함을 확인하였다. 이는 대조제로 선택되어진 스포라노스 캡슐제의 경우 HPMC 층에 이트라코나졸의 입자들이 분포되어 있는 고체 분산체의 구조를 지니고 있으며 그 위에 다시 PEG 층으로 코팅되어 있는 구조를 지니므로써 이트라코나졸이 용해되기 위하여 고분자의 고체층의 분해 과정이 수반되어야 하는 반면에 SAS 공정을 통하여 얻어진 포접화합물의 경우 초임계유체에 의해 이트라코나졸이 HP-β-CD에 효율적으로 포접되어 이트라코나졸의 결정 형성이 어렵게 될 뿐만 아니라 HP-β-CD의 외부에 존재하는 친수성 히드록실기에 의해 수용액상에서의 용해도와 용출 속도가 급격히 증가하기 때문인 것으로 생각된다.

4. 결 론

본 연구에서는 초임계 이산화탄소를 이용한 SAS 공정을 적용하여 난용성 약물인 이트라코나졸과 HP-β-CD 간의 포접복합체 제조를 수행하고 수용액상에서의 용해도 및 용출 경향을 검토하였다. Methylene chloride와 ethanol의 혼합용액(3:7, v/v)을 이용하여 이트라코나졸과 HP-β-CD를 1:2의 물비로 용해시켜 35-65 °C의 온도범위와 83-140 bar의 압력범위에서 SAS 공정으로 이트라코나졸/HP-β-CD 포접복합체 미세입자를 제조하였다. SAS 공정을 통하여 제조되어진 포접복합체는 이트라코나졸 및 HP-β-CD 원재료의 XRD 및 DSC를 이용하여 결정성 및 열적 특성과 비교함으로써 초임계유체 공정에 의해 포접복합체를 제조할 수 있음을 확인하였다. 또한, SAS 공정을 통하여 얻어진 포접복합체를 pH 1.2인 인공위액 상에서 용해도 측정과 용출시험을 수행하고 이트라코나졸 원재료와

이트라코나졸/HP- β -CD의 물리적 혼합물 및 이트라코나졸을 함유한 시판 제제의 경우와 비교함으로써 수용액상에서 용해성이 매우 향상되고 매우 빠른 초기 용출경향을 지님을 확인할 수 있었다. SAS 공정을 통하여 제조되어진 포접체는 pH 1.2의 인공위액에서 이트라코나졸 원재료에 비하여 90배 이상 용해도가 증가되었으며 이러한 용해도의 증가는 비교적 낮은 온도인 35 °C의 SAS 공정 조건에서 더욱 증가 되었으며 35 °C의 동일 온도조건에서는 압력의 증가에 따른 이산화탄소의 밀도, 용매에 대한 용해력의 증가에 및 HP- β -CD의 비율 증가에 따라 포접체의 형성이 더욱 우수하게 이루어짐을 확인할 수 있었다. *In vitro* 용출 시험에서도 투입된 이트라코나졸의 90% 이상이 용출개시 5-15분 만에 방출되는 매우 빠른 초기 용출특성을 보였으며 대조제인 시판제제의 동일 조건에서 용출경향과 비교하여 매우 빠른 용출률을 확인할 수 있었다.

감 사

본 연구는 과학기술부/한국과학재단 지정 수원대학교 환경청정기술연구센터의 지원과 산업자원부 에너지관리공단의 2004년도 에너지기술 학술진흥사업 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Thompson, D. O., "Cyclodextrins-Enabling Excipients: Their Present and Future Use in Pharmaceuticals," *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **14**(1), 1-104(1997).
2. Loftsson, T. and Brewster, M. E., "Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins: 1. Solubilization and Stabilization," *J. Pharm. Sci.*, **85**, 1017-1025(1996).
3. Uekama, K. and Otagiri, M., "Cyclodextrins in Drug Carrier Systems," *CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **3**, 1-40(1987).
4. Martin Del Vall, E. M., "Cyclodextrins and Their Uses: A Review," *Process Biochemistry*, **39**, 1033-1046(2004).

5. Sheehan, D. J., Hitchcock, C. A. and Sibley, C. M., "Current and Emerging Azole Antofungal Agents," *Clin. Microbiol. Rev.*, **12**, 40-79(1999).
6. Warnock, D. W., "Itraconazole and Fluconazole: New Drugs for Deep Fungal Infection," *J. Antimicrob. Chemother.*, **24**, 275-277(1989).
7. Van Peer, A., Woestenborghs, R., Heykants, J., Gasparini, R. and Gauwenbergh, G., "The Effects of Food and Dose on The Oral Systemic Availability of Itraconazole in Healthy Subjects," *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **36**, 423-426(1989).
8. Baert, L. E. C., Verreck, G. and Thoné, D., "Antifungal Compositions with Improved Bioavailability," U.S. Patent No. 6,509,038 B2(2003).
9. Baert, L. E. C., Verreck, G. and Thoné, D., "Solid Mixtures of Cyclodextrin Prepared via Melt-Extrusion," U.S. Patent No. 6,365,188 B1(2002).
10. Joseph, A. B., Bruce, L. M., Joseph, G., Alan, E. H., John, L. C., Robert, H. B. and Lois, J., "Enhanced Bioavailability of Itraconazole in Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Solution versus Capsules in Healthy Volunteers," *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**, 1862-1865(1998).
11. Barone, J. A., Koh, J. G., Bierman, R. H., Colaizzi, J. L., Swanson, K. A., Gaffar, M. C., Moskovitz, B. L., Mechliniski, W. and Van de Velde, V., "Food Interaction and Study-state Pharmacokinetics of Itraconazole Capsules in Healthy Male Volunteers," *Antimicrob. Agents Chemother.*, **37**, 778-784(1993).
12. Grant, S. M. and Clissole, S. P., "Itraconazole: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Use in Superficial and Systemic Mycoses," *Drugs*, **37**, 310-344(1989).
13. Ghorab, M. K. and Adeyeye, C., "Enhanced Bioavailability of Process-induced Fast-dissolving Ibuprofen Congranulated with β -Cyclodextrin," *J. Pharm. Sci.*, **92**, 1690-1697(2003).