

다중약물방출시스템을 이용한 염산딜티아젬의 방출속도 조절에 관한 연구

김학형 · 오진환 · 한 건*†

(주)한국콜마 기술연구원, *충북대학교 약학대학 약제학실
(2005년 4월 2일 접수 · 2005년 5월 7일 승인)

A Formulation Study for the Controlled Release Rate of Diltiazem · HCl using the Multiple Drug Release System

Hak-Hyung Kim, Jin-Hwan Oh and Kun Han*†

Central R&D Center, Kolmar Korea Inc., Yeongi, Chungnam 339-853, Korea

*College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea

(Received April 2, 2005 · Accepted May 7, 2005)

ABSTRACT – The pellets with multiple drug release system (MDRS) of Diltiazem · HCl which consist of immediate drug release layer, drug reservoir layer and controlled release rate membrane, were prepared by using CF-Coater. As main factors for more effective MDRS of Diltiazem · HCl, ethylcellulose was used for the controlling drug release rate, and diethylphthalate was used for plasticizer, respectively. *In vitro* evaluation study was performed by comparative dissolution test between our test MDRS and reference Diltiazem · HCl preparation. The physical tests were performed using FT-IR and SEM. *In vivo* evaluation was also performed by observing the behavior of a plasma drug concentration after oral administration. The bioavailability was determined by analyzing the blood sample after oral administration to healthy, male volunteers once a day. As a result, there were no significant differences in bioequivalence parameters (AUC_{∞} , C_{max} , $t_{1/2}$) between two systems. It might be concluded that our MDRS of Diltiazem · HCl could be an alternative delivery system to reference drug preparation.

Key words – multiple drug release system, Diltiazem · HCl, pharmaceutical equivalence, bioequivalence

염산딜티아젬 (Diltiazem · HCl, (+)-cis-3-Acetoxy-5-(2-dimethylaminoethyl)-2,3-dihydro-2-(4-methoxyphenyl)-1,5-benzothiazepin-4(5H)-one hydrochloride, 이하 DTZ)은 칼슘 채널 차단제로 심혈관 및 협심증 치료제로 분류되고 있으며 주로 혈관 평활근의 이완과 말초혈관 저항의 감소에 의한 항고혈압 효과를 나타낸다. 현재 관상동맥 경련으로 인한 협심증과 만성 협심증에의 적용이 승인되어 있으며, 이의 치료효과는 심장 및 혈관 평활근 세포내로 칼슘 유입을 차단하는 작용에 기인하는 것으로 알려져 있다. 또한 심근의 산소 요구량을 감소시킴으로써 협심증 환자의 내약성을 증가시킬 뿐만 아니라 관상동맥을 확장시켜 항고혈압 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 경구투여 시 소화관에서의 흡수율이 80~90%로 흡수가 잘 되지만 초회통과효과(first pass effect)로 인하여 절대 생체이용율은 약 40~44% 정도를 나타낸다. 단회 경구투여 후 염산딜티아젬의 최고 혈중농도 도달시간은 2~3시간 이내이며, 소실반감기는 3~5시간으로 매우 짧고, 최

소 치료 혈장 농도는 50~200 ng/ml의 범위에서 나타난다.¹⁾ 고혈압 치료 지침에 의한 항고혈압제의 사용평가 결과에 의하면 1차 치료약물로서 칼슘채널 차단제의 사용빈도는 단일 처방 치료요법 뿐 아니라 복합 처방에서도 사용이 매우 많은 제제로 보고되어 있다. 따라서 환자의 복용 편의성과 약효 유지를 위해 약물의 일정한 혈중 농도가 요구되는 제제 중 하나로 이를 위해 수용성, 수팽윤성, 수불용성 물질 또는 고분자를 이용하여 DTZ의 서방성 제제개발을 위한 처방 연구가 활발히 이루어지고 있는 상황이다. 최근에는 약물의 일정한 방출 제어 시스템 제제의 개발을 위하여 속방출성 약물층과 서방출성 약물층을 동시에 함유하는 다중약물 방출 제제를 제조하여 기존 서방성 제제의 단점인 초기의 낮은 방출 속도를 극복하려는 연구가 이루어지고 있다. 이 다중약물 방출제제의 대표적인 형태가 펠렛인데 이것은 정제나 캡슐제가 가지고 있는 문제인 불규칙한 혈중농도의 상승과 위장관 자극 등의 부작용 발현율을 개선할 수 있는 제형으로 최근에 경구용 지속성 제제의 발전과 더불어 관심이 커지고 있으며 구형의 펠렛을 코팅하여 주성분의 지속적인 용출을 도모하는 연구가 활발해지고 있다.²⁾

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 043)261-2820, E-mail : khan@chungbuk.ac.kr

본 연구에서는 약물 방출속도 조절을 위한 처방의 제제학적 연구를 위하여 의약품의 첨가제 중 수불용성 필름을 형성하는 고분자 물질인 에칠셀룰로오스(Ethylcellulose; 이하 EC)를 사용하여 약물의 reservoir층을 피복 코팅하여 서방성 약물층의 방출조절 제어막을 형성시키고 이를 함유하는 다중약물 방출제제를 제조하여 *in vitro* 및 *in vivo* 시험을 통하여 시판품과 약효동등성 여부를 평가하여 새로운 formulation의 제제의 개발 가능성을 확인하였다.

실험 방법

재료 및 기기

Ethylcellulose(EC, SHIN-ITSU Chemical, Japan), Polyvinylpyrrolidone(PVP K-30, BASF, Germany), Diethyl phthalate (DEP, SHIN-ITSU Chemical, Japan) 등을 사용하였고, 기타 시험에 사용한 원료는 모두 약전급, 또는 특급시약이며 추가 정제를 하지 않고 사용하였다. 대조약으로는 헤르벤 서방캡슐(DTZ로서 180 mg/cap, 제조번호 022017, 한일약품)을 사용하였다. 연구기기로는 FT-IR(JASCO 360, 일본), HPLC (Waters Brezze Model, 미국; Pump: Waters1525 Binary pump; Detector: Waters 2487 Detector; Integrator: Brezze System Software; Injector: Waters 717 plus Autosampler), 용출시험기(Erweka DT-606, On/Off line Auto System, 독일), CF Coater(Freund, CF-360EX, 일본) 등을 사용하였다.

DTZ 다중 약물방출 펠렛의 제조

DTZ 다중 약물방출 펠렛의 제조는 먼저 sugar seed를 core로 하여 CF-Coater에서 주성분 DTZ와 결합제로서 PVP K-30을 사용하여 서방성 약물층을 갖는 펠렛을 제조한 후, 여기에 방출제어막 형성물질인 EC와 가소제인 디에틸 프탈레이트(diethyl phthalate, 이하 DEP)를 사용하여 서방출성막을 형성시키고, 계속하여 다시 주성분 DTZ와 결합제로서 PVP K-30를 사용하여 피복한 후 최종적으로 속방출성 약물층을 피복하여 DTZ 180 mg/cap을 함유하고 속방성 및 서방성의 이중방출 양상(dual-release pattern)을 갖는 다중 약물방출 펠렛을 제조하였다.

주사전자현미경(Scanning Electron Microscopy, 이하 SEM)의 관찰

SEM (HITACHI, S-3000N, Japan)을 이용하여 본 연구에서 제조한 방출제어 펠렛과 다중 약물방출 펠렛의 표면을 35배로 펠렛 표면을 관찰하였다.

FT-IR의 평가

본 연구에서 제조한 다중 약물방출 펠렛을 FT-IR(JASCO 360, Japan)의 샘플 holder에 넣고 2000~900 cm^{-1} 범위에서 사용된 DTZ 원료와 부형제들의 상호작용 여부를 확인하였다.

비교용출시험

*In vitro*에서의 약효동등성 평가를 위하여 본 연구에서 제조한 다중 약물방출 펠렛(DTZ으로 180 mg/cap)을 시험약으로 하고 시판품을 대조약으로 하여 이들 두 제제간의 용출 시험을 시행하였다. 즉, 대한약전의 용출시험 제2법에 따라 100 rpm, 36.5°C에서 정제수, pH 1.2, pH 4.0 및 pH 6.8의 용출액 900 ml를 써서 미리 정해진 시간에 샘플 5 ml를 취하여 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하였다. 여액을 식약청의 약효동등성시험 관리 지침에 따라 UV 280 nm 및 320 nm에서의 흡광도를 측정(Perkin Elmer, Lambda 25-16, U.S.A.)하여 320 nm의 흡광도를 280 nm의 흡광도에서 감하여 정량하였다. 용출시험 결과는 용출율(%), 용출시간, similarity factor(f_2) value,³⁾ 두 제제간의 각 용출 시간에서의 평균 용출율의 차이를 평가하여 시험약과 대조약의 동등성을 확인하였다.

$$\text{Similarity factor}(f_2) = 50 \log[1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2]^{0.5} \times 100$$

여기에서 n은 용출액으로부터 시료 채취의 횟수이고, R_t 와 T_t 는 대조약과 시험약의 시료채취 시간별 용출양상으로 t에서 개개의 용출된 퍼센트 양(%)을 나타낸다.

약물투약 및 혈액채취

시험약으로 제조한 DTZ의 다중 방출약물 펠렛과 시판품인 대조약과의 약물동태학적인 비교 연구를 통해 제제간 동등성을 확인하기 위하여 27~35세 사이의 건강한 성인 남성 지원자 10명을 대상으로 각각 5명씩 나누어 DTZ로서 180 mg에 해당하는 양으로 제조한 경질 캡슐제를 240 ml의 물과 함께 경구 투여하였다. 이때 피험자는 공복상태(overnight fast)였으며, 약물 투여 후 4시간 동안 절식하였다. 또한 시험 1주일 전부터 어떠한 약물도 복용하지 않은 상태였다. 각 피험자로부터 투여직전, 투여 후 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24시간에 채혈하여 혈장 내 DTZ의 농도 측정을 위한 시료로 사용하였다.

혈장중 염산딜티아젯의 정량

혈장 중 DTZ의 함량은 HPLC⁵⁾를 이용하여 분석하였다. 이동상으로는 아세트니트릴 : 인산완충액(pH 3) 38:62를 사

용하였고, 유속은 1.0 ml/min, 주입량은 30 μ l이었으며 UV 검출기의 파장은 237 nm에서 정량하여 검량선을 작성하였다. DTZ 표준품에 메탄올(methanol, 이하 MeOH)을 가하여 각 농도(20, 50, 100, 250, 500 및 1000 ng/ml)로 희석하고, 내부표준물질로 이미프라민(imipramin, 이하 IMP)을 MeOH에 녹여 2 μ g/ml로 되도록 제조하였다. 희석한 표준액을 각각 50 μ l씩 취하여 시험관에 넣고, 공혈장 100 μ l씩을 가하여 교반한 후 디메틸 에테르(dimethyl ether) 3 ml를 넣어 혼합교반 후, 냉침 시킨 시료를 2,000 rpm에서 5분간 원심분리 시킨 후 상등액 2.5 ml를 취하였다. 이것을 다시 시험관에 넣고 0.01N HCl 100 μ l를 가하여 교반하여 층 분리를 시킨 후 HCl층의 시료를 취하여 HPLC로 정량하여 검량선을 구하였다. 한편, DTZ의 혈장농도 분석은 피험자에게 DTZ를 복용시킨 후 정해진 시간별로 피험자로부터 혈액을 채취하여 혈장을 분리한 후 -20°C에 보관하였다. 냉동보관 했던 혈장시료를 분석 직전에 실온에 방치하여 해동한 후 10초간 진탕한 후 6,000 g/min에서 원심분리를 시행하였다. 상층액 100 μ l를 취하여 내부표준액 50 μ l를 가하고 dimethyl ether 3 ml를 넣어 2,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상층액 2.5 ml를 취하여 표준액과 동일한 전처리를 하고 HPLC를 이용하여 정량하여 혈액 중에서의 DTZ의 양을 구하였다.

약물속도론적 파라미터의 분석

각 제제의 혈장중 약물농도-시간곡선하 면적(AUC_∞), 최고 혈장중 농도(C_{max}) 및 소실 반감기(t_{1/2})를 구하였으며 이들 두 제품에서 각각 얻은 값에 대해 AUC_∞ 및 C_{max}의 로그변환치를 생물학적 동등성 시험 통계처리용 프로그램인 KBE test를 이용하여 $\alpha=0.05$ 에서 분산분석을 실시하여 90% 신뢰한계를 구하였다.

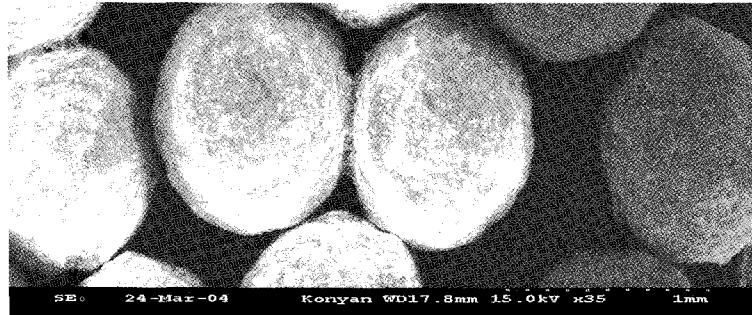
결과 및 고찰

DTZ 다중 약물방출 펠렛의 제조 및 평가

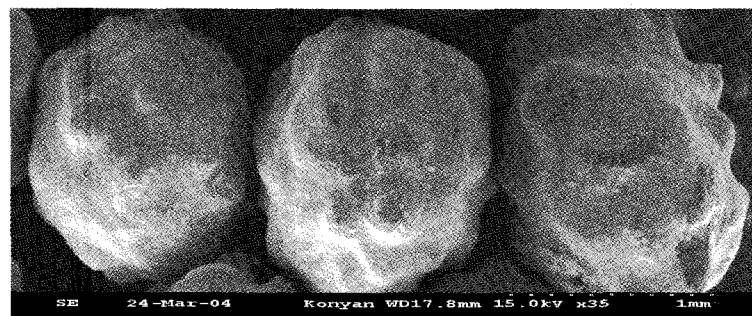
본 연구에서 제조한 다중 약물방출 펠렛의 제조를 위한 처방은 Table I에 나타내었다. 약물저장층 펠렛 위에 방출

Table I—Formulation of Multiple Drug Release Pellet Containing DTZ

Ingredients	Contents (%)
Sugar seed	26.60
DTZ	67.21
PVP K-30	1.87
Talc	3.48
EC	0.76
DEP	0.08



A: Surface morphology of EC alone coated pellets



B: Surface morphology of multiple drug release pellets

Figure 1—Scanning electron micrographs of pellets (magnification: $\times 35$).

조절막인 EC로 코팅된 서방성 펠렛과 다중 약물방출 펠렛의 코팅 표면을 SEM을 사용하여 관찰한 결과 코팅이 진행될수록 고형분의 양이 증가되어 코팅면에 굴곡이 형성되었지만 거칠어지거나 펠렛들이 달라붙는 현상으로 발생하는 필름막의 hole없이 약물의 서방성을 위한 필름 코팅막이 양호하게 형성됨을 볼 수 있었다 (Figure 1). 한편, 다중 약물방출 펠렛의 코팅 표면은 속방출성층의 고형분 양이 계속적인 증가로 인하여 굴곡이 심하게 형성되었지만, 코어표면에 형성된 속방성 약물층의 결합은 양호하게 이루어졌다. 최종 제조된 다중 약물 방출 펠렛은 1400~1900 μm 의 입자 크기가 약 80% 내에 분포되도록 이루어졌다. 한편, 본 연구에서 제조한 다중 약물방출 펠렛의 FT-IR 관찰 결과를 Figure 2에 나타내었다. DTZ의 주요 흡수대 파수는 1741 cm^{-1} 에서 acetyl 기의 C=O, 1678 cm^{-1} 에서 amide의 C=O, 1252 cm^{-1} 및 1025 cm^{-1} 에서의 C-O를 나타내며⁶⁾ 본 연구에서 사용된 부형제와의 상호작용에 의한 DTZ의 관능기의 흡수대 파수 변화는 없는 것으로 확인되어 주성분인 DTZ와 사용된 부형제와는 화학적인 상호작용이 없는 것으로 판단된다.

비교용출시험

본 연구에서 제조한 시험약과 시판품은 DTZ의 용출량이 30, 50, 80%에 도달하는 시간이 정제수, pH 1.2, pH 4.0 및 pH 6.8 완충액에서 별다른 차이 없이 거의 같은 시간대에 도달하는 것으로 나타났으며(Table II), 두 제제 모두 유사한 용출곡선(Figure 3, 4 및 5)을 나타내어 두 제제 간

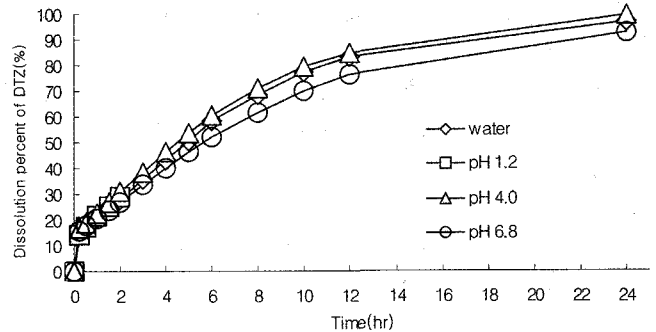


Figure 3-The dissolution patterns of DTZ from reference samples in dissolution media, Key : ◇; water, □; pH 1.2, △; 4.0, ○; 6.8 buffer media.

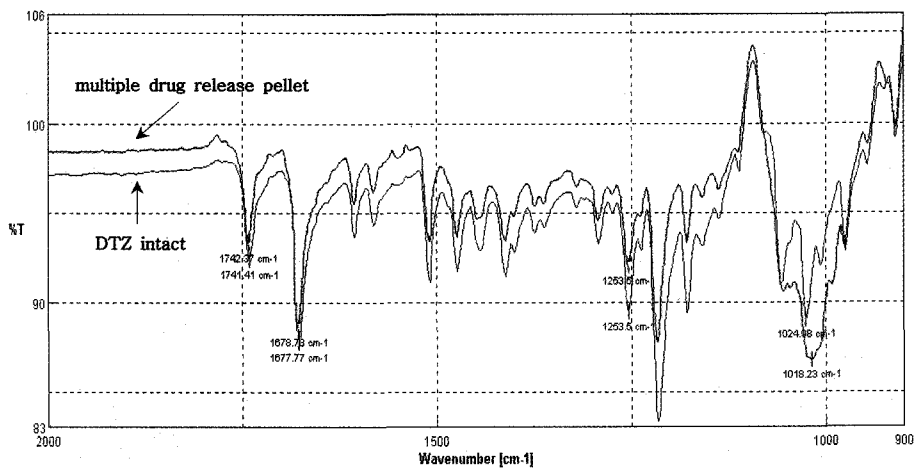


Figure 2-FT-IR spectroscopy overlay of DTZ intact and multiple drug release pellets.

Table II-The Dissolution Rate(%) of DTZ Measured at 60, 120, 300, 600 min in Each Dissolution Media

Dissolution time (min)	Product	Purified water	pH 1.2	pH 4.0	pH 6.8
60	reference	20.99	21.49	22.80	20.63
	test	20.77	18.70	21.15	19.42
120	reference	28.07	28.74	30.99	26.84
	test	27.09	25.35	28.57	24.15
300	reference	50.54	-	53.92	46.22
	test	47.70	-	50.84	41.40
600	reference	77.25	-	79.40	69.93
	test	74.06	-	76.90	67.45

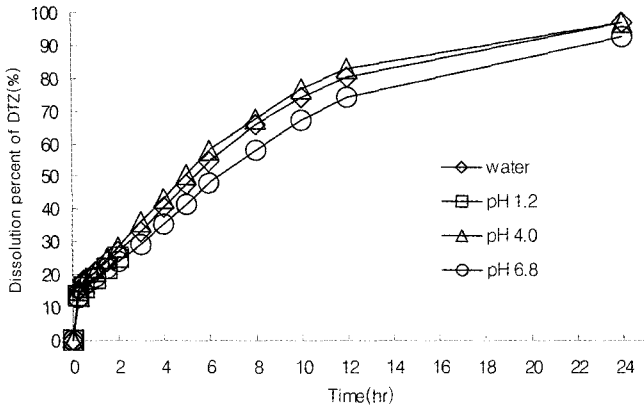


Figure 4—The dissolution patterns of DTZ from test samples in dissolution media, Key : ◇; water, □; pH 1.2, △; 4.0, ○; 6.8 buffer media.

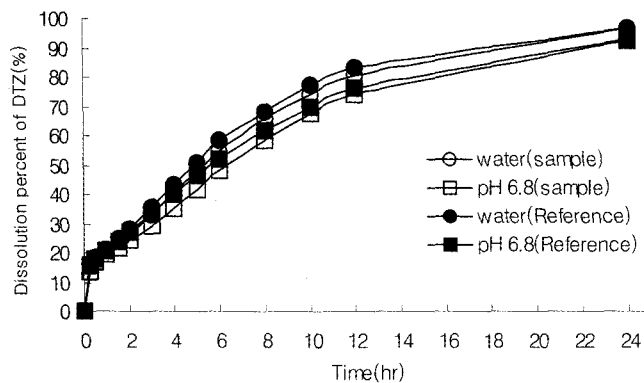


Figure 5—The dissolution curves of DTZ from test and reference samples in water and pH 6.8 buffer medium.

Table III—The Differences of Mean Dissolution Rate of Test from Reference Product in Various Media of 30, 50 and 80% Released Point

	Average released percent		
	30%	50%	80%
Purified water	+2.4	+2.8	+0.1
pH 1.2	+3.3	-	-
pH 4.0	+2.4	+3.1	+1.7
pH 6.8	+4.5	+4.1	+0.1

용출양상은 거의 같았으며, 대조약의 평균 용출률이 30, 50, 80%에 도달하는 시점에서의 대조약과 시험약의 평균 용출률의 차이는 Table III에 나타낸 것처럼 10% 이내인 것으로 나타났다. 시판 대조약과의 용출 양상을 비교하여 제제간의 용출 동등성을 확인하기 위하여 각 용출매에서 시험약과 대조약의 similarity factor(f_2)를 구하여 Table IV에 나타내었다. 즉 f_2 values는 각각의 용출조건에서 50-100 사이의 값

Table IV—Similarity Factor, f_2 Values in Dissolution Media

Media	f_2 values
Purified water	80.61
pH 1.2	78.52
pH 4.0	79.48
pH 6.8	74.37

을 나타내어 FDA SUPAC Guidance의 제제간 비교 평가기준에 따른 비교용출시험 결과 다중 약물방출 펠렛과 시판 대조약 두 제제의 용출 양상은 동등성을 나타냄^{8,9)}을 알 수 있었다.

혈장 중 염산딜티아젯 농도 및 약물동력학적 평가 결과

시험자의 대조혈장에 DTZ 및 내부 표준물질인 IMP을 첨가하여 얻은 HPLC 크로마토그램과 시험약 투여 후 12시간째의 혈장을 본 시험방법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Figure 6에 나타내었다. DTZ 피크(유지시간 : 약 7.1분) 및 IMP 피크(유지시간 : 약 10.2분) 분리 상태는 양호하였으며 DTZ의 검량선은 $y=0.0015x+0.0363$ ($r^2=0.991, p<0.01$)로 0.02~1.0 $\mu\text{g/ml}$ 범위에서 양호한 직선성을 나타내었으며, Interday 및 Intraday변동계수(C.V.)는 모두 10% 이하로 혈장 중 DTZ에 대한 HPLC 분석법으로 사용하기에 충분한 감도와 정확성 및 정밀성을 가지고 있음을 알 수 있었다. 신제품이나 소위 Generic Product의 처방연구에 있어서 하나의 제형으로부터의 약물의 생체이용률은 대조약과의 약물의 최고 혈중농도 C_{max} , 약물의 최고 혈중농도 도달시간 T_{max} 와 혈중약물농도-시간 곡선하 면적(AUC)의 측정에 의하여 비교된다. 본 연구에서 제조한 시험약과 시판 대조약과의 약물동력학적 평가를 건강한 성인남성 지원자 각각 5명에서 수행하였다. DTZ으로서 180 mg에 해당하는 제제를 단회 투여한 후 각 지원자로부터 24시간 채혈하여 분석한 약물의 평균 혈중농도 곡선을 Figure 7에 나타내었고, 각각의 약물의 평균 최고 혈중농도 C_{max} 와 혈중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC_∞) 및 반감기($t_{1/2}$)를 Table V에 나타내었다. 또한 개개의 파라미터를 ANOVA(analysis of variance) 통계 처리하여 계산된 AUC_∞의 log 변환 값이 0.946, C_{max} 는 0.933으로 되어 90% 신뢰 구간 내에서 각각 AUC는 0.76862~1.1667, C_{max} 는 0.8304~1.0504의 값이 적합하여야 하는 기준에 맞게 두 제제는 동등한 것으로 판단되었다.

결 론

1. 다중 약물방출 시스템을 위하여 제조된 펠렛의 주요 구

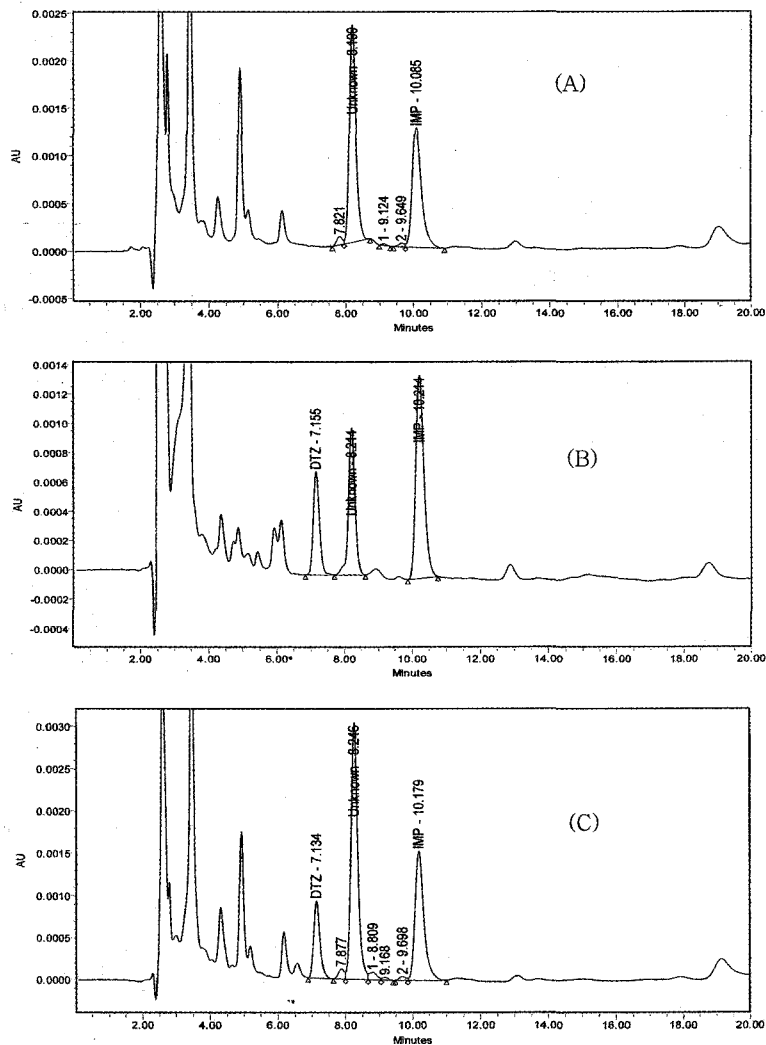


Figure 6—Chromatograms of (A); blank human plasma spiked with internal standard (IMP, 2 µg/ml), (B); blank human plasma spiked with DTZ(250 µg/ml) and internal standard(IMP, 2 µg/ml), (C); plasma sample at 10 hr after oral administration of sample(180 mg/cap).

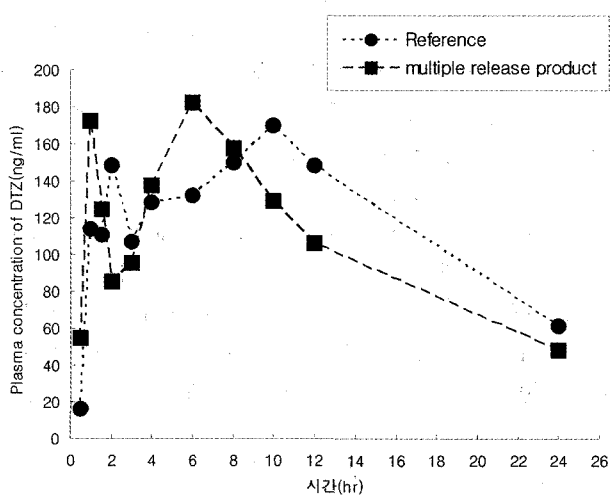


Figure 7—Mean plasma concentration-time curves of DTZ following oral administration of one test sample(■) and reference sample(●).

Table V—The Analysis of Pharmacokinetic Parameters after Oral Administration of Test and Reference Product

Samples	AUC (ng hr/ml)	C _{max} (ng/ml)	t _{1/2} (hr)
Reference	2803.25 ± 297.50 ^{a)}	152.73 ± 51.37	10.96 ± 0.39
Sample	3173.52 ± 540.94	143.10 ± 47.09	10.19 ± 2.45

a) Mean ± S.D.

성성분은 각각 방출제어막으로서의 EC의 함량은 0.76%, 가소제로서 DEP의 함량은 0.08%, 결합제로서 PVP K-30의 함량은 1.87%이며 주성분인 DTZ의 함량은 180 mg/cap이 되도록 제조하였다.

2. 다중 약물방출 펠렛의 제조시 FT-IR 확인결과 주성분 DTZ과 첨가제와는 상호작용이 없는 것으로 확인되어 제제의 안정성에 미치는 영향이 없을 것으로 판단되었다.

3. 약효동등성시험을 위한 비교 용출시험 결과 본 연구에서 제조한 시험약과 시판 대조약의 평균 용출율의 차이는 10% 이내로 나타났으며, similarity factor f_2 의 값이 50~100 사이에 있는 것으로 나타나 두 제제간의 제제학적 동등성이 있음을 확인하였다.

4. *In vivo* 시험에서 시험약과 대조약의 약물동력학적 파라미터인 AUC_{∞} , C_{max} 및 $t_{1/2}$ 의 값의 유의성 있는 차이가 없고, 또한 통계 처리된 log변환 값이 90% 신뢰구간에 적합하여 두 제제의 생물학적 동등성을 확인하였다.

감사의 말씀

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

참고문헌

- 1) The pharmacopeia of the United States, 26th Rev., the United States pharmacopeial convention, Inc., Rockville, MD, USA, 2355-2356, 2003.
- 2) S.W. Lee, S.H. Kam, J.W. Hong, K.S. Choi, E.S. Park and S.C. Chi, Effect of poloxamer content on dissolution of diltiazem hydrochloride from core pellets. *J. Kor. Pharm. Sci.*, **32**(4), 305-311 (2002).
- 3) FDA guidance for industry, SUPAC-MR: modified release solid oral dosage forms; scale-up and post approval changes; chemistry, manufacturing and controls; *In vitro* dissolution testing and *in vivo* bioequivalence documentation, September, 32-33 (1997).
- 4) P.C. Wu, Y.B. Huang, J.I. Chang, M.J. Tsai and Y.H. Tsai, Preparation and evaluation of sustained release microspheres of potassium chloride prepared with ethylcellulose, *Int. J. Pharm.*, **260**, 115-121 (2003).
- 5) Y.H. Lee, K.B. Shim, M.H. Lee and S.K. Kim, HPLC determination of diltiazem and deacetyldiltiazem in rat plasma, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **22**(4), 317-321 (1992).
- 6) The pharmacopeia of the Japan, 14th rev. Hirokawa, Tokyo, C674-C677 (2001).
- 7) B.S. Rao and K.V.R. Murthy, Studies on rifampicin release from ethylcellulose coated nonpareil beads, *Int. J. Pharm.*, **231**, 97-106 (2002).
- 8) M. Choi, C.S. Kang, B.K. Choi, C.H. Hong and K.S. Kim, *In vitro/in vivo* correlation of sustained release diltiazem, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **32**(4), 321-325 (2002).
- 9) H. Kim and R. Fassibi, A ternary polymeric matrix system for controlled drug delivery of highly soluble drug with high drug loading: diltiazem hydrochloride, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **31**(1), 19-25 (2001).