

界面活性劑가 Griseofulvin의 吸收에 미치는 影響에 관한 研究

李 康 樞 · 金 在 百

圓光大學校 大學院* · 圓光大學校 藥學大學**

The Effects of Surfactants on Griseofulvin Absorption in Rabbits

Kang Choo, Lee* and · Jae Baek Kim**

(Received April 6, 1982)

The effects of mixture of tween 20 and span 20 or span 80 on griseofulvin absorption in rabbit were studied. The plasma concentration of griseofulvin in blood samples was determined by high pressure liquid chromatographic procedure.

Griseofulvin suspension with 0.05% surfactant increased mostly drug absorption and produced about two times higher plasma level of griseofulvin than that of the suspension with 1% and 0.1% surfactant.

Surfactants with H.L.B. value 4.3 resulted 2.74 μ g/ml of maximum plasma levels of griseofulvin at 18 hours after its oral administration and surfactants with H.L.B. value 16.7 resulted 0.56 μ g/ml of peak plasma levels of griseofulvin at 1 hour after its oral administration.

Griseofulvin(7-Chloro-4,6,2'-trimethoxy-6'-methyl-gris-2'-en-3,4-dione)은 難溶性인 抗真菌性抗生物質로 그 粒子度가 生體吸收에 크게 影響을 미치고 몇가지의 界面活性劑와 混合投與하므로써 그 體內吸收가 改善된다는 報告가 있다.

Duncan等¹⁾과 Krame等²⁾은 數種의 界面活性劑와 混合投與하므로써 griseofulvin의 吸收가 增加되고 또 이 藥品의 粒子의 크기가 吸收에 큰 影響을 미친다고 報告하였으며 Rawland等³⁾은 griseofulvin과 polyethylene glycol 300을 混合投與하여 血中濃度가 增加하였음을 報告하였고 Kabasakalian等⁴⁾은 投與하는 時間, 高脂肪食投與量이 griseofulvin의 吸收에 미치는 影響에 對하여 報告하였으며 Barret等⁵⁾은 개와 사람에 對하여 polyethylene glycol 6000을 混合한 超微粒 griseofulvin과 市中の 一般微粒 griseofulvin을 投與한 다음 그 血中濃度

* Graduate School, Won Kwang University

** College of Pharmacy, Won Kwang University

를 比較研究하였고 Lin等⁶⁾, Chiou等⁷⁾, 및 Maeda等⁸⁾은 人體에, Barnes等⁹⁾은 數種의 動物에 griseofulvin을 經口投與한 다음 그의 吸收, 代謝와 排泄에 對하여 研究한 結果 人體에 있어서의 代謝는 rat mouse보다 토끼와 개가 더 類似하다는 것을 報告하였으며 Bloodow等¹⁰⁾, 과 Grisafe等¹¹⁾은 數種의 脂肪이 griseofulvin의 吸收에 미치는 影響에 對하여 研究하여 aqueous vehicle보다 hexadecane, oleyl alcohol, triolein은 吸收을 減少시키고 polysorbate 80은 增加시키며 trioctanone은 影響이 없다는 것을 報告하였고 Bates等^{12,13)}, Carrigan等¹⁴⁾은 griseofulvin 현탁액과 corn oil을 섞은 현탁액이 griseofulvin의 吸收에 미치는 影響을 比較 研究하여 corn oil을 混合한 현탁액이 그 吸收을 지연시켰으나 오히려 最高血中濃度는 增加시켰다고 報告하였다.

以上 여러 報告는 surfactant의 各 HLB值에 依한 影響은 報告된 바가 없으며 HLB 值의 變化에 따라 griseofulvin의 吸收에 影響을 미칠 것으로 思料되어 本實驗에 着手하였으며 家兔를 사용하여 실험한 結果 知見을 얻었기에 報告하는 바이다.

血液中 griseofulvin의 定量法은 T.L.C.¹⁵⁾, gas chromatography¹⁶⁾, gas liquid chromatography^{6,17)}, 및 spectrophotofluorometry^{1,3,18)} 등이 있으나 著者는 high pressure liquid chromatography²³⁻²⁵⁾의 方法으로 griseofulvin을 定量하다. 家兔를 使用하여 實驗한 結果 知見을 얻었기에 報告하는 바이다.

實 驗

材料—griseofulvin(超微粒品으로서 그의 平均比面積은 1g當 2.1m²를 使用하였다), tween 20(polyoxyethylene sorbitan monooleate), span 20(sorbitan monolaurate), span 80(sorbitan monooleate).

機器—high pressure liquid chromatography, Perkin Elmer(ALCGPC 254),

Column: microbondapak C 18

3,9mm I.D. × 30cm

Detector, UV 280nm; solvent, acetonitrile/H₂O=50 : 50; flow rate, 1.5ml/min; A. U. F. S, 0.01; Inj. vol, 20μl; chart speed, 5mm/min.

動物—體重 1.6~2.3kg의 健康한 白色순토끼(New Zealand white)를 使用하였다.

濃度別界面活性劑의 調劑—Griseofulvin의 吸收에 가장 좋은 影響을 주는 界面活性劑의 濃度を 求하기 爲하여 1%, 0.5%, 0.1%, 0.05%, 0.01%의 濃도로 界面活性劑의 水溶液을 調劑하였다.

HLB值別 界面活性劑의 調劑—HLB值가 16.7인 tween 20, 8.6인 span 20, 4.3인 span 80을 一定比率로 混合하여 HLB值가 各各 4.3, 6.5, 8.4, 10.5, 12.7, 14.0, 16.7이 되도록 調劑한 다음 증류수로 0.05%가 되게 하였고 混合比率는 stable I 과 같다.

試料液의 調劑—Griseofulvin을 秤取하여 앞에서 調劑한 界面活性劑 溶液에 현탁시켜 ml當 40mg이 되게 하였으며 用時 진탕하여 使用하였다.

試料의 投與—最適濃度實驗 : 24時間 絶食시킨 토끼에게 앞에서 調劑한 各濃度の griseofulvin液을 토끼 體重 kg當 5ml(griseofulvin 20mg/kg)를 取하여 內經 1.9mm의 cut down tube를 使用하여 經口投與한 다음 증류수 5ml씩을 取하여 tube를 洗滌하였다.

Table I—The Desired HLB Obtained by Using a Blend of Two Emulsifiers

HLB Values	Weight of Tween and Span		
	Tween 20	Span 20	Span 80
4.3	0	0	100
6.5	0	100	100
8.4	100	0	200
10.5	100	0	100
12.7	100	100	0
14.0	200	100	0
16.7	100	0	0

別途로 증류수에 같은 濃度로 현탁시킨 griseofulvin 현탁액을 토끼에게 投與하여 control 로 하였다(實驗動物數各 3匹).

HLB值別實驗: 24時間絶食시킨 토끼에게 H. L. B. 值別로 調製한 試料液을 위 方法에 準하여 投與하였다(實驗動物數 各3匹).

血液採取—試料液을 投與하기 直前(0時間), 投與後 1, 2, 6, 12, 18, 24, 48時間째마다 토끼의 耳靜脈에서 21k의 注射針으로 約 2ml씩 採血했다. 採血하는 동안 食餌投與를 하지 않았다.

血液檢體의 處理—採取한 2ml의 血液에 1N-HCl를 넣어 pH5로 調節하고 warfarin sodium solution을 加한 다음 ether 10ml 加하고 진탕한 다음 15分間遠心分離(3000 rpm)하고 Ether層을 取하여 질소 증진下 40°C에서 蒸發시킨 다음 殘渣를 50% methanol 10ml에 녹이고, n-hexane 10ml를 넣어 脂肪을 除去하기 爲하여 10°C에서 遠心分離했다. methanol

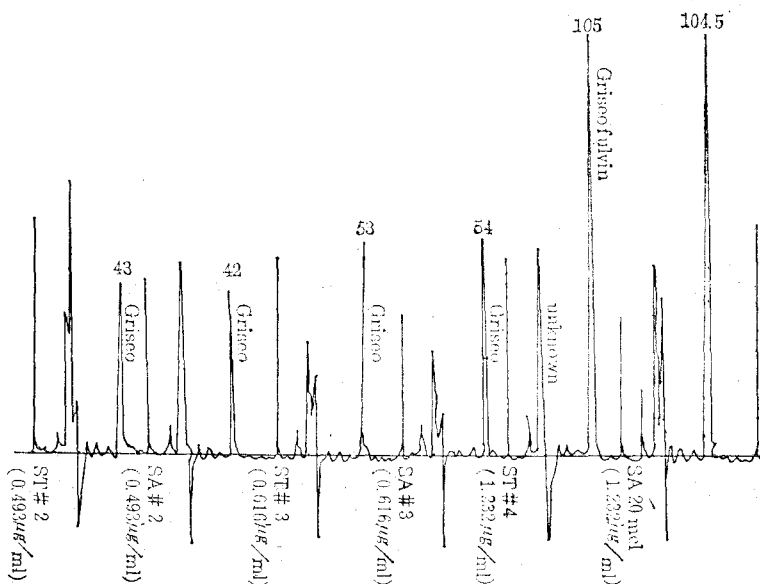


Figure 1—High pressure liquid chromatogram of griseofulvin standard solution and blood sample solution.

層을 取하여 機器에 injection하였다.

Griseofulvin의 定量—諸言에서 言及한 바와 같이 血液檢體中 griseofulvin의 定量方法으로는 T.L.C., gas chromatography, gas liquid chromatography, 및 spectrophotofluorometry 등이 있으나 high pressure liquid chromatography를 利用하여 豫備試驗으로 標準品과 血液檢體(토끼血液과 griseofulvin을 混合한 것)를 定量한 結果 Fig. 1과 같은 結果를 얻었다.

結果 및 考察

難溶性인 griseofulvin의 吸收에 關하여는 여러가지 研究가 있었다. corn oil, polyethylene glycol 300, polysorbate 80이 吸收를 增進시키고 hexadecane, oleyl alcohol, triolein은 吸收를 減少시킨다는 등 研究報告는 있었으나 界面活性劑의 HLB值가 吸收에 미치는 影響에 對하여는 研究된 바가 없었다.

界面性劑의 最適濃度—먼저 家兎에 對하여 griseofulvin의 吸收에 가장 좋은 影響을 미치는 界面活性劑의 濃度を 求하기 爲하여 span 80을 1%, 0.5%, 0.1%, 0.05%, 0.01%의 各濃度別 griseofulvin 현탁액을 調製하여 家兎體重 kg當 griseofulvin 200mg씩 되게 經口投與하여 그 血中濃度を 測定하였다.

1% span 80 griseofulvin 현탁액을 投與하여 實驗한 結果는 Fig. 2와 같다.

Fig. 2를 보면 span 80 1% 溶液은 經口投與後 18時間 뒤에 griseofulvin의 血中濃도가 最高에 達하였으며 이때 濃度は ml當 1.38 μ g이었다.

Span 80의 0.5% 溶液은 역시 經口投與後 18時間 뒤에 griseofulvin의 血中濃도가 最高에 達하였으며 이때 濃度は 1.72 μ g/ml이었다.

Span 80의 0.1% 용액에 griseofulvin을 현탁시킨 液은 역시 18時間 뒤에 最高血中濃도에 達하였으며 이때 濃度は 1.88 μ g/ml이었다.

0.05%의 span 80과 griseofulvin의 현탁액도 投與後 18時間뒤에 最高血中濃도에 達하였고 이때 濃度は 2.74 μ g/ml이었다.

0.01%의 span 80 溶液과 griseofulvin의 현탁액 역시 投與後 18時間 뒤에 最高血中濃도에 達하였으며 이에 濃度は 1.21 μ g/ml이었다.

Table II—Plasma Levels of Griseofulvin Following Its Oral Administration as a Single 200mg/kg Dose in Various Concentration of Span 80

Concentration of Surfactants	Weight of Rabbits(kg)	Griseofulvin Concentration in Rabbit Plasma(μ g/ml)							
		0hr	1hr	2hr	6hr	12hr	18hr	24hr	48hr
Control	2.0	0.00	0.25	1.01	0.19	0.16	0.10	0.10	0
Span 80 1%	2.4	0.00	0.11	0.12	0.12	0.66	1.38	1.02	—
Span 80 0.5%	2.0	0.00	0.31	0.41	0.56	1.04	1.72	1.66	0.72
Span 80 0.1%	1.8	0.00	0.61	1.00	1.09	1.51	1.88	1.69	0.50
Span 80 0.05%	2.0	0.00	0.29	1.36	1.96	2.26	2.74	2.68	0.62
Span 80 0.01%	1.7	0.00	0.21	0.38	0.45	0.69	1.21	1.03	0.42

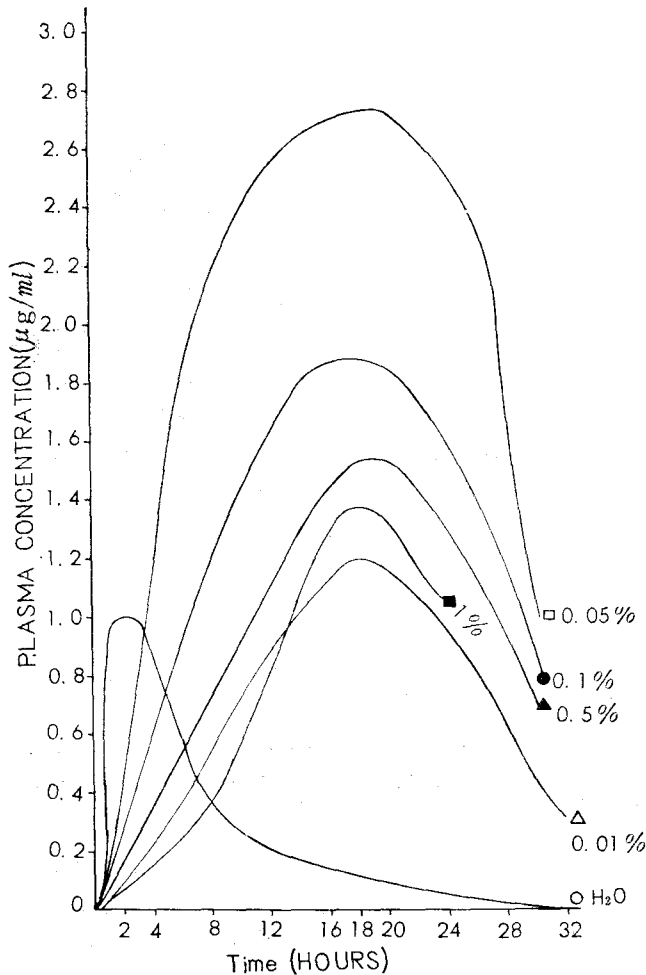


Figure 2—Plasma concentrations of griseofulvin following oral administration of 200mg/kg of griseofulvin suspended in various concentration of span 80 and water to rabbits.

따로 control로서 증류수와 griseofulvin의 현탁액을 투여한 뒤 血中濃度を測定한 바를 보면 2時間 뒤에 最高에 達하였으며 濃度は $1.01\mu\text{g/ml}$ 이었다.

Table II 및 Fig. 2을 보면 control은 2時間 뒤에 peak에 達했으며 界面活性劑인 span 80 (HLB值 4.3)의 各濃度別 griseofulvin과의 현탁액은 18時間 뒤에 peak에 達했고 0.05% 농도에서 가장 높은 血中濃도에 到達하였다.

HLB值와 Griseofulvin의 吸收와의 關係—難溶性인 griseofulvin의 體內吸收에 있어서 界面活性劑를 HLB值別로 混合하여 그 吸收에 미치는 影響에 對하여 實驗하였다.

Fig. 3을 보면 HLB值가 4.3인 span 80은 18時間 뒤에 peak를 이루어 濃도가 $2.74\mu\text{g/ml}$ 에 達했고 24時間後에도 $2.68\mu\text{g/ml}$ 를 維持하였다. HLB值가 6.45인 界面活性劑의 0.05% 溶

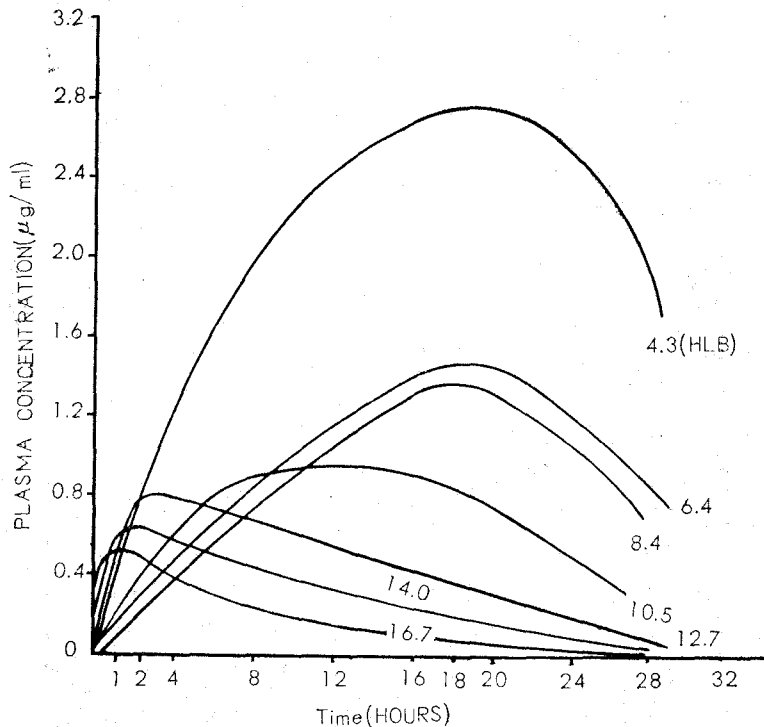


Figure 3—Plasma concentrations of griseofulvin following oral administration of 200mg/kg of griseofulvin suspended in various HLB values of surfactants to rabbits.

液과 griseofulvin과의 현탁액은 토끼의 體內吸收가 經口投與後 12時間에 最高血中濃度 ($1.43\mu\text{g/ml}$) 達하였으며 이 濃度は 18時間까지 維持되었고 48時間後에도 $0.70\mu\text{g/ml}$ 이었다.

HLB值가 8.4인 界面活性劑의 0.05% 溶液과 griseofulvin의 현탁액은 經口投與後 18時間에 濃도가 $1.30\mu\text{g/ml}$ 이었다.

HLB值가 10.5인 界面活性劑의 0.05% 溶液과 griseofulvin의 현탁액은 投與後 12時間에 最高血中濃度を 나타냈고 그 濃度は $0.9\mu\text{g/ml}$ 이었다. H.L.B值가 12.7인 界面活性劑의 0.05% 溶液과 griseofulvin과의 현탁액은 投與後 2時間에 最高血中濃度を 나타냈고 그 濃度は $0.79\mu\text{g/ml}$ 이었다. HLB值가 14.0인 界面活性劑와 griseofulvin과의 현탁액은 投與後 2時間에 最高血中濃도를 이루었고 그 濃度は $0.60\mu\text{g/ml}$ 이었다. HLB值가 16.7인 界面活性劑와 griseofulvin과의 현탁액은 投與後 1時間에 最高血中濃도를 나타냈고 그 濃度は $0.56\mu\text{g/ml}$ 이었다.

위 實驗을 綜合하면 Table II와 같으며 界面活性劑의 HLB值와 griseofulvin의 體內吸收를 比較하면 HLB值가 4.3일 때 最高血中濃度は $2.74\mu\text{g/ml}$ 이고 t_{max} 는 18時間이었으며 HLB值가 6.45일 때는 最高血中濃도가 $1.43\mu\text{g/ml}$ 이고 t_{max} 는 12時間이었으며 HLB值가 10.5일 때는 最高血中濃도가 $0.9\mu\text{g/ml}$ 이고 t_{max} 는 12時間이었으며 HLB值가 12.7일 때 最高血中濃度は $0.79\mu\text{g/ml}$ 이고 t_{max} 는 2시간이었으며 HLB值가 16.7일 때 최고血中濃도는 $0.56\mu\text{g/ml}$ 이고

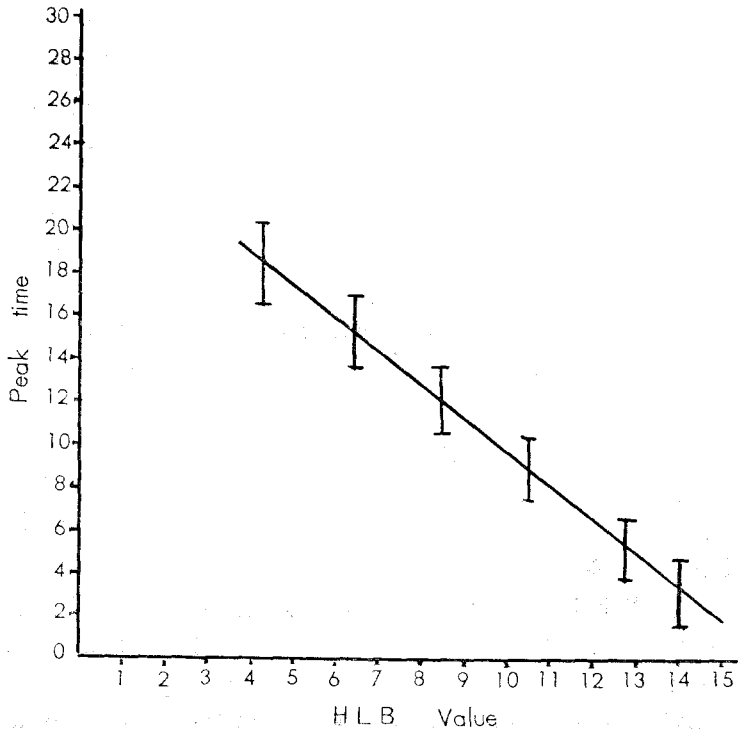


Figure 4—Correlation of the HLB value with the time of peak plasma level.

t_{max} 는 1시간이었다.

即 HLB值가 낮을수록 最高血中濃度는 높았으며 t_{max} 는 늦어졌고 HLB值가 높아질수록 最高血中濃度는 낮아졌으며 t_{max} 는 빨라졌다.

HLB值가 4.3일때의 血中最高濃度는 $2.74\mu\text{g/ml}$ 이므로 HLB值가 16.7일때의 最高血中濃度 $0.56\mu\text{g/ml}$ 보다 約 4.9배에 達하였다.

HLB值와 最高血中濃度時間과의 關係를 보면 Fig.4와 같다.

Table III—Plasma Levels of Griseofulvin Following its Oral Administration as a Single 200mg/kg Dose in Various HLB Value of Surfactants

HLB Values	Weight of Rabbits(kg)	Griseofulvin Concentration in Rabbit Plasma($\mu\text{g/ml}$)							
		0hr	1hr	2hr	6hr	12hr	18hr	24hr	48hr
4.3	2.0	0.00	0.29	1.36	1.96	2.26	2.74	2.68	0.62
6.45	1.8	0.00	0.26	0.39	0.62	1.43	1.43	1.40	0.70
8.4	1.8	0.00	0.24	0.30	0.51	1.10	1.30	1.00	0.65
10.5	1.6	0.00	0.32	0.74	0.80	0.90	0.80	0.40	0.10
12.7	1.9	0.00	0.40	0.79	0.55	0.51	0.45	0.35	0.00
14.0	2.0	0.00	0.58	0.60	0.41	0.30	0.30	0.19	0.00
16.7	2.0	0.00	0.56	0.50	0.32	0.23	0.10	0.10	0.00

Griseofulvin의 吸收時間—Griseofulvin의 最高血中濃度가 HLB值에 따라 1~18時間 사이에서 나타났으며 HLB值가 16.7일때 經口投與 1時間後에 peak를 이루었고 HLB 4.3일때는 18時間 뒤에 HLB值가 6.45인 경우에는 12時間뒤에 最高血中濃도에 達하였으며 最高濃도인 $1.4\mu\text{g/ml}$ 가 6時間이나 持續된 것을 볼 수 있다.

또 家兎의 正常的인 胃腸管系 通過時間에 比하여 經口投與後 18時間만에 最高 血中濃도를 나타냈다는 것에 對하여는 더 研究하여야 할 것으로 思料되며 다음과 같은 것을 推定할 수 있다.

(1) 토끼는 低脂肪食動物로서 脂肪分이 混合된 griseofulvin 懸탁액을 投與했을 때에 吸收에 影響을 미치고,

(2) Griseofulvin은 脂溶性인 藥物로서 ion化群을 가지고 있지 않으며 이 非 ion性인 性質이 腸內 pH變化의 影響을 받지 않고, 界面活性劑를 投與하므로써 토끼 腸管系의 연동운동에 影響을 미치는 것이 아닌가 보여진다.

結 論

本 研究에서 界面活性劑가 그 HLB值에 따라서 難溶性인 griseofulvin의 家兎體內吸收에 미치는 影響을 實驗하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 여러가지 濃도의 界面活性劑와 griseofulvin의 混合懸濁液中에서 界面活性劑의 濃도 0.05%일때가 가장 吸收가 좋았으며 그 最高血中濃도는 經口投與後 18時間後에 $2.74\mu\text{g/ml}$ 로서 1%일때 $1.38\mu\text{g/ml}$ 보다 約 2倍이었고 0.01%일때 $1.21\mu\text{g/ml}$ 일때보다 約 2.3倍이었다.

2. 물과 griseofulvin의 混液은 投與後 2時間에 最高血中濃도를 이루어 ml 當 $1.01\mu\text{g}$ 이었으며 界面活性劑를 投與했을 때는 最高血中濃도가 各 濃도마다 投與後 18時間이었다.

이로 미루어 볼 때 界面活性劑를 混合 投與하므로써 吸收는 相當히 增進되고 吸收時間은 지연되고 持續的이 된다.

3. 界面活性劑의 HLB值와 griseofulvin의 吸收와의 關係는 HLB值가 낮을수록 吸收가 增進되었고, 最高血中濃도時間은 늦어졌으며 HLB值가 높을수록 最高血中濃도는 낮아졌고 그 到達하는 時間은 빨라졌다.

文 獻

- 1) W.A.M. Duncan, G. Macdonald and M.J. Thornton, *Resear. Pap. Imp. Chem. Ind.* 217~224 (1961)
- 2) Michael Krame, Jean Dubuk, and Desmond Beall, *Can. J. Biochem. Physiol.*, **40**, 1449~1451 (1962)
- 3) M. Rawland, S. Riegelman and W.L. Epstein, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 984~989, (1968)
- 4) P. Kabasakalian, M. Katz, B. Rosenkrantz, and E. Townley, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 595~600, (1970)
- 5) W.E. Barret and J.R. Bianchine, *Curr. Ther. Resear.*, **18**, 501~508 (1975)
- 6) C.C. Lin, J. Magat, R. Chang, J. Mcglotten, S. Symchowicz, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **187**, 415~422 (1973)
- 7) W.L. Chiou and S. Riegelman. *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1376~1380 (1971)
- 8) T. Maeda, H. Takenaka, Y. Yamahira and T. Noguchi, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1286~1289, (1979)
- 9) M.J. Barnes and B. Boothroyd, *Biochem. J.*, **78**, 41~43 (1961)
- 10) D.C. Bloedow and W.L. Hayton, *J. Pharm. Sci.*, **65**, **3**, 328~334 (1976)
- 11) J.A. Grisafe and W.L. Hayton, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 895~899 (1978)
- 12) T.R. Bates and J.A. Sequeira, *J. Pharm. Sci.*, **64**, 793~797 (1975)
- 13) T.R. Bates and P.J. Carrigan, *J. Pharm. Sci.*, **64**, 1475~1481 (1975)
- 14) P.J. Carrigan and T.R. Bates *J. Pharm. Sci.*, **62**, 1476~1479 (1973)
- 15) Y. Garceau, J. Brisson, I. Davis, R.L. DeAngelis and J. Hasegawa, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 561~563 (1980)
- 16) V.P. Shah, S. Riegelman and W.L. Epstein, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 634~636 (1972)
- 17) H.J. Schwarz, B.A. Waldman, *J. Pharm. Sci.*, **65**, 370~372 (1976)
- 18) L.J. Fischer, S. Riegelman, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 1571~1576 (1965)
- 19) 日本抗生物質醫藥品解説集 藥業時報社 (1971)
- 20) P.A. Harris, S. Riegelman, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 93~96 (1969)
- 21) R. Kaur, D.J.W. Grant, T. Eaves, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 1317~1325 (1980)
- 22) J.T. Fell, R.T. Calvert, P. Riley-Bentham, *J. Pharm. Pharmacol.*, **30**, 479~482 (1978)
- 23) E. Townley and Paul Roden, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 523~526 (1980)
- 24) R.L. Nation, G.W. Peng, V. Smith and W.L. Chiou, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 805~808 (1978)
- 25) M.C. Meyer and G. Rahow, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1127~1130 (1979)