

푸마르산철·글리신 복합체의 약제학적 연구 (제 1보) 푸마르산철의 글리신 복합체에 관한 연구

신현중 · 이완하*

보령제약(주) 중앙연구소 · *성균관대학교 약학대학
(1987년 5 월 19일 접수)

Pharmaceutical Studies on Ferroglycine Fumarate (I) Studies on Glycine Complex of Ferrous Fumarate

Hyun Jong Shin and Wan Ha Lee*

BoRyung Pharm. Co., Ltd. and *College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University
(Received May 19, 1987)

In order to reduce gastric irritation of iron preparations, one prodrug, glycine complex of ferrous fumarate, was synthesized, identified, examined for physico-chemical properties and compared with ferrous fumarate, ferrous sulfate and ferroglycine sulfate. That novel ferroglycine fumarate (FGF) resulted in higher dissolution rate in water, artificial gastric and intestinal juice. The absorption rate constants (K_a) in rat of FGF was greater and ulcerogenic dose on stomach was increased remarkably than those of iron parent materials and ferroglycine sulfate.

의약품의 생체내 이용율은 약물 자체의 물리화학적 성질과 제제과정의 요인에 의하여 영향을 받으며 특히 경구투여 제제인 경우에는 소화관으로부터의 약물의 흡수율에 의한 영향이 크다¹⁾. 따라서 일반적인 약물의 결점인 오미, 오취, 자극성, 불안정성, 난용성, 흡수불량, 부작용 등을 개선하기 위하여 유용한 유도체로 전환시키거나 특수한 약제학적 설계를 하는 방법이 시도되고 있다. 즉 이미 잘 알려진 약물을 화학적으로 수식을 가하여 유도체로 투여하고, 생체내에 흡수된 후에는 본래의 약물로 전환하여 작용하므로써 그 약물의 결점을 개선시키는 방법이 많이 연구되고 또 제제화되고 있다²⁾.

한편 철은 생체내의 필수 무기질로서 인체에는 약 4,200mg이 존재하여 생리작용에 직접 관여하고 있으며 부족할 때에는 철 결핍성 빈혈, 현훈 등

의 장애가 나타난다. 또한 부족한 철분을 공급하기 위하여 투여되는 제철화합물은 십이지장에서 Fe^{++} 로 주로 흡수되어 상피세포를 통해 장관 점막세포로 이행되고 대부분은 carrier에 의해 혈액중으로 운반되어 혈장중의 ceruloplasmin에 의해 Fe^{+++} 로 산화된 후 transferrin-Fe 복합체를 형성하여 적아구 및 조직에 저장된다. 그러나 철 제중에는 장내용물과 장시간 접촉되면 유기물과 결합하거나 Fe^{+++} 로 산화되어 흡수가 어려워지고 치료효과도 없을 뿐만 아니라 여러가지 부작용의 원인이 되기도 한다^{3,4)}. 특히 무기철제는 흡수가 불량하기 때문에 대량 투여하여야 치료효과를 얻을 수 있으나 반면 식욕부진, 오심, 구토, 설사, 복통, 위장출혈 등의 부작용이 심하다. 1957년부터는 ferrous fumarate, ferrous gluconate 등의 유기철제가 이용되었지만 흡수가

만족하게 개선되지 못하였다. 즉 종래의 철제중 가장 흡수가 잘 되고 안전한 유기철제로 알려진 ferrous fumarate (이하 Fe-Fum으로 약함)도 역시 fumaric acid와 철과의 결합이 견고하여 흡수가 완전하다고 볼 수 없다⁴⁾. 그래서 최근에는 ferrous sulfate (이하 FeSO₄로 약함)의 구토, 복통 등의 위장해와 설사 등의 부작용⁵⁾을 개선하기 위하여 이 약물의 prodrug를 만들어 체내 흡수율을 증가시키고 제제의 용출시간을 조절하여 지속화시키므로써 복용방법을 간단하게 하고 유효농도를 장시간 유지시키는 방법도 연구되고 있다⁶⁾.

저자는 철제 투여시 소장에서의 pH를 완충시키고 pH 증가를 지연시킬 목적으로⁷⁾ Fe-Fum에 아미노산인 glycine을 결합시켜⁸⁾, 그것이 ferroglycine fumarate complex (이하 FGF로 약함)임을 확인하고, 이 물질을 분배계수, 용출속도, 혈중농도, 위점막장해, 위점막손상, 급성 독성 등의 실험에서 Fe-Fum, FeSO₄, ferroglycine sulfate complex⁸⁾ (이하 FGS로 약함) 등과 비교 검토하였다.

실험방법

재료 및 시약

ferrous fumarate (Nichia Chem.), dried ferrous sulfate (Kokusai Kakaku), L-glycine (Yuki Kosei Kogyo) 및 기타 시약은 시판 1급 시약을 사용하였다.

기기

uv-vis spectrophotometer (model Lambda 3, Perkin Elmer), infrared spectrophotometer (model 682, Perkin Elmer), differential scanning calorimeter-thermal analyzer (910/990, Dupont), dissolution tester (DT 6, Erweka), x-ray diffractometer (D-Max, Riegaku) 등을 사용하였다.

실험동물

체중 150~200g의 Wistar rat를 암수 구별없이 온도 23°C, 습도 65% RH의 동물실험실에서 2주일 이상 사육하여 24시간 절식시킨 다음 사용하였으며, 체중 30~40g의 마우스를 암수 구별없이 온

도 23°C, 습도 65% RH의 동물실험실에서 2주일 이상 사육하여 16시간 절식시킨 다음 사용하였다.

Ferrous Fumarate의 용해도에 미치는 Glycine의 영향

Job의 연속변화법^{9,10)}에 의하여 Fe-Fum 0.5×10⁻³M 용액 (0.1M sod. phosphate buffer, pH 8.0)에 glycine을 0.1×10⁻³, 0.3×10⁻³, 0.5×10⁻³, 0.75×10⁻³ 및 1.0×10⁻³M이 되도록 각각 가하여 밀폐하고 25°C에서 48시간 진탕한 후, 이 용액을 0.45 μm의 Millipore filter로 여과한 여액을 적절히 희석하여 0.1M sod. phosphate buffer (pH 8.0)를 대조액으로 하여 흡수극대파장인 314 nm에서 흡광도를 측정하였다.

복합체의 결합조성비 측정

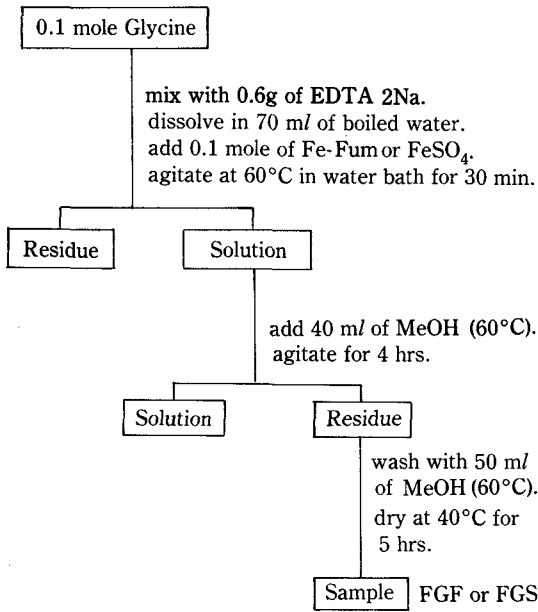
Job의 연속변화법^{9,10)}에 의하여 Fe-Fum 1×10⁻³M 용액 (0.1M sod. phosphate buffer, pH 8.0)과 glycine 1×10⁻³M 용액 (동일용매)을 사용하여 Fe-Fum/glycine의 mole 농도비가 0/10, 1/9, 2/8, 3/7, 4/6, 5/5, 6/4, 7/3, 8/2, 9/1, 10/0이 되도록 조제한 후 25°C에서 48시간 진탕한 후 0.45 μm의 Millipore filter로 여과하여 앞에서와 같은 방법으로 흡광도를 측정하였다.

복합체의 제조

Takagi⁹⁾의 FGS 제조방법에 따라 Fe-Fum 또는 FeSO₄를 각각 0.1mole씩을, glycine 0.1 mole에 EDTA·2Na 0.6g을 혼합하여 새로 끓여 식힌 증류수 70 ml에 용해한 용액에 교반하면서 서서히 가하고 60°C로 30분간 수욕상에서 가온한 후 여과한 여액에 40 ml의 열메탄올을 가해 4시간 이상 방치한 다음 생성된 침전을 여취하여 50 ml의 열메탄올로 세척하고 40°C에서 5시간 건조하여 만들었다 (Scheme 1).

복합체의 확인

UV 흡수 스펙트럼의 측정-Ikeda 등¹¹⁾의 방법에 따라 1×10⁻³M Fe-Fum 용액에 glycine을 0, 0.5×10⁻³ 및 1×10⁻³M이 되도록 첨가하여 녹이고, 25°C에서 0.1M sod. phosphate buffer (pH 8.0)를 사용하여 적절히 희석한 후 200~450 nm 범위의 파장에서 흡수 스펙트럼을 측정하였다.



Scheme 1 — Method for preparation of FGF or FGS.

적외부 흡수 스펙트럼의 특징—Fe-Fum, glycin 과 Fe-Fum의 물리적인 혼합물 및 FGF 등을 시료로 하여 브롬화칼륨 정제법에 의하여 측정하였다.

DSC의 측정—위의 시료들을 승온속도 10°C/min로 온도범위 25~300°C까지 10과 50 mV/cm로 측정하였다. 표준물질로는 α -alumina를 사용하였다.

분말 X선 회절 측정—위의 시료들을 미세한 분말로 유리판위에 동일평면이 되도록 밀착시키고 CuK_{α} 선 (1.5418 Å)에 의하여 회절각 (2θ) 5-40°C 온도범위를 주사속도 4°C/min으로 측정하였다. Ni filter로 1 초의 time constant로 slit는 2 (1) 3 (0.3 mm) 4 (1°), 기록속도는 40 mm/min, 측정감도는 4000 cps로 일정하게 유지하였다.

정량법

영국약전법—원료약품의 Fe^{++} 정량에 이용하였다.

o-Phenanthrolin정량법¹²⁾—검체에 10% 염산 3 ml, 염산히드록실마민용액 1 ml, *o*-phenanthrolin 용액 5 ml 및 초산완충용액 20 ml를 가하고 물로 전량 100 ml되게 한 다음 진탕하여 약 30분간 정치한 후 파장 510 nm에서 흡광도

를 측정하였다. 따로 철 표준용액을 동일하게 처리하여 얻은 검량선으로부터 Fe^{++} 의 농도를 구하였다.

자외부 흡광도 측정법—분배계수와 용출속도의 측정은 자외부흡광도측정법을 이용하였다.

분배계수 측정

Glasstone 등¹³⁻¹⁵⁾의 방법에 따라 각 분말시료 1×10^{-3} M을 미리 *n*-옥탄올, 클로로포름, 사염화탄소로 각각 포화시킨 물, 제 1액(KP, pH 1.2) 및 제 2액(KP, pH 6.8) 100 ml씩에 가하고, 25°C의 수용상에서 충분히 용해시킨 다음 0.45 μ m의 Millipore filter로 여과한 여액을 흡수극대 파장 (Fe-Fum 계는 314 nm, FeSO₄ 계는 240 nm)에서 흡광도를 측정하고, 유기용매는 미리 물, 제 1액 및 제 2액으로 각각 포화시킨 *n*-옥탄올, 클로로포름, 사염화탄소의 동일량을 가하여 25°C에서 1 시간 동안 진탕한 후 30분간 방치하여 수층을 분리하고 다시 흡광도를 측정하여 다음 식으로 분배계수 (P_c)를 산출하였다.

$$P_c = \frac{C_o}{C_w}$$

C_w ; 평형후의 수층의 약물농도

C_o ; 수층의 약물초농도 - 평형후의 수층의 약물농도

용출속도 측정^{16,17)}

대한약전 일반시험법중 용출시험법 제 1법에 따라 분말시료 약 200 mg을 정밀하게 달아 1 R용 타정기로 타정압 300 kg/cm²에서 약 20분간 압축하여 직경 10 mm disk를 만들어 disk holder에 넣고, 용매로 물, 제 1액, 제 2액을 용기에 각 500 ml씩 넣어 37±0.5°C를 유지하면서 100 rpm으로 회전시키면서 2, 5, 10, 30, 60분마다 일정 위치에서 용출액 10 ml씩을 취하고 즉시 같은 온도의 용매를 보충해 주고 0.45 μ m Millipore filter로 여과한 후 앞의 *o*-phenanthrolin법¹²⁾에 따라 처리하여 회색한 다음 파장 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

약물흡수 실험

Hanano 등의¹⁸⁾ 방법에 따라 rat 4 마리를 1 군으로 하여 Fe^{++} 40mg에 대응하는 양의 시료를 취하여 각각 물로 현탁시켜 경구투여하고, 에틸로

마취시킨 후 15, 30, 60, 120, 150분 후 꼬리정맥에서 혈액 약 1 ml/씩을 20% 구연산나트륨용액으로 전처리한 원심분리관에 취하여 3,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 얻은 혈장 0.5 ml에 3% 이소아밀알코올을 함유한 *n*-헵탄 10 ml/씩을 넣고 micro mixer로 진탕추출한 후 다시 원심분리하여 *n*-헵탄층 5 ml/를 취하고 1N 황산 5 ml로 15분간 진탕추출하여 다시 원심분리한 후 1N 황산층을 취하여 앞의 *o*-phenanthrolin 정량법¹²⁾에 따라 조작하고 파장 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 따로 시료 투여전에 채혈한 혈장에 대하여 동일한 조작을 하여 보정하였다.

위점막 장애 실험

Yokoyama¹⁹⁾ 등의 방법에 따라 rat 5 마리를 1 군으로 하고 Fe-Fum, FeSO₄는 128, 256, 512, 1,024 mg/kg씩, FGF, FGS는 256, 512, 1,024, 2,048 mg/kg씩으로 각각 4 단계의 양을 경구투여하고, 6 시간후에 위장을 적출하고 대만 꼭부분을 따라 절개하여 위내벽에 나타난 궤양이나 반점출현을 관찰하여 4 구분으로 평가하였다. 아래 score ② 이상의 경우를 양성으로 간주하여 Behrens 법에 따라 50% 궤양을 일으키는 용량 (stomach ulcerogenic dose 50; SUD₅₀)과 통계 처리에 의한 95% 신뢰한계를 산출하였다.

- ① - : 정상
- ② + : 출혈, 점막의 마모 흔적
- ③ ++ : 5 개 미만의 소궤양 (직경 또는 길이 2mm 이하)
- ④ +++ : 5 개 이상의 소궤양 또는 1 개의 대궤양
- ⑤ ++++ : 2개 이상의 대궤양 (직경 또는 길이 2mm 이상)

위점막 손상 관찰

rat에 1 일 1 회씩 1 주일간 Fe⁺⁺로서 40 mg에 대응하는 시료를 경구투여한 후 위장을 적출하여 조직표본을 한 다음, 현미경으로 200배에서 관찰하여 비교하였다.

급성 독성시험

Behrens법에 따라 mouse 5 마리를 1 군으로 하여 FGF 시료를 512, 1,024, 2,048, 4,096, 8,192 mg/kg씩 5 단계로 경구투여한 후 48시간

동안에 사망한 수를 조사하여 우선 치사량의 범위를 정한 후 그 범위를 5 등분하여 2,730, 3,003, 3,303, 3,634, 3,997 mg/kg씩 투여하여 50% 치사량(LD₅₀)과 통계처리에 의한 95% 신뢰한계를 산출하였다.

실험결과 및 고찰

Ferrous Fumarate의 용해도에 미치는 Glycine의 영향

glycine의 양에 반비례하여 Fe-Fum의 용해도가 0.334에서 0.210으로 감소하였으나, glycine의 농도가 0.5×10⁻³M 이상 증가해도 용해도는 그 이상 감소하지 않고 오히려 다소 증가하였다 (Fig. 1). 이 결과로써 Giles 등¹⁰⁾, Thakkay 등²⁰⁾의 보고에서와 같이 복합체 형성의 가능성을 알 수 있다.

복합체의 결합조성비

연속변화법^{9,10)}에 의한 결합조성비를 구하기 위하여 흡광도 차이 (D)를 plot한 결과, Fe-Fum와 glycine의 mole 비가 1 : 1인 점에서 흡수극대가 나타나므로 FeSO₄의 경우와 같이 결합조성비가 1 : 1임을 알 수 있다⁷⁾(Fig.2). 이 결과는 Fig.1에서도 역시 mole 비가 0.5/(1-0.5)로서 Lach 등²¹⁾, Tsuruoka 등¹⁷⁾, Ikeda 등¹¹⁾의 예에서와 같이 1 : 1임을 알 수 있다.

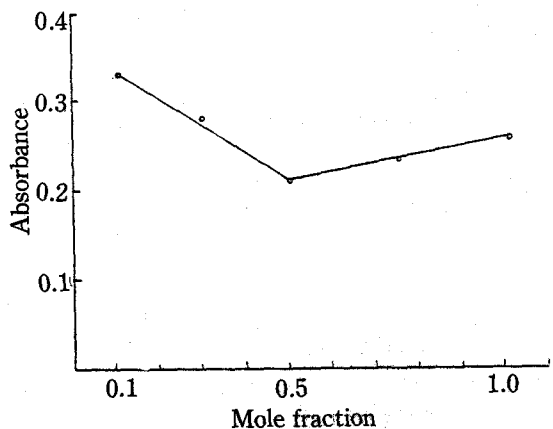


Figure 1—Effects of glycine on the solubility of Fe-Fum at 25°C.

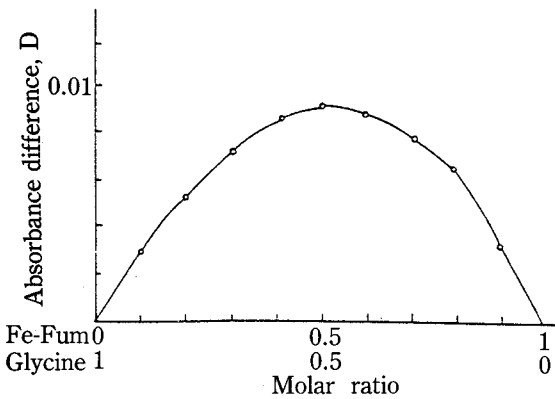


Figure 2—Continuous variation plots for FGF in 0.1 M sod. phosphate buffer (pH 8.0) at 314 nm.

자외부 흡수스펙트럼

Fe-Fum는 흡수극대파장이 glycine의 첨가로 314.3 nm에서 314.7 nm로 이동하였고 314 nm에서 흡광도 값은 glycine 농도의 증가에 따라 커졌다. 그리고, 312.3 nm에서 isosbestic point가 나타나므로 Ikeda 등¹¹⁾의 보고와 같이 glycine과의

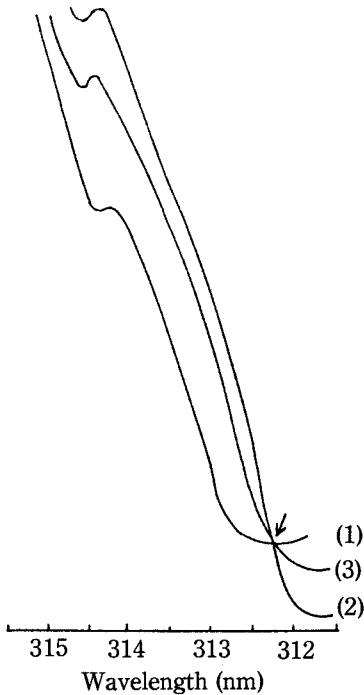


Figure 3—Effect of glycine on uv absorption spectra of Fe-Fum in 0.1 M sod. phosphate buffer (pH 8.0) at 25°C. Key: (1), Fe-Fum 1×10^{-3} M; (2), glycine 1×10^{-3} M added, (3), glycine 0.5×10^{-3} M added.

complex 생성을 확인할 수 있었다⁸⁾(Fig.3).

적외부 흡수스펙트럼

각 시료의 물리적 혼합물의 적외부 흡수스펙트럼은 각 성분의 적외부 흡수의 단순한 화로 변화가 없었으나, 복합체는 여러 적외 흡수스펙트럼에 있어서 고파수 또는 저파수의 변동을 나타내어 어떤 특정한 위치관계로 복합체를 형성하고 있음을 알 수 있다. 즉 Fe-Fum 계의 적외부 흡수스펙트럼에서는 glycine의 893 cm^{-1} 에 나타난 N-H band가 약 10 cm^{-1} 고파수 shift하였고, 1334 cm^{-1} 의 C-N band가 약 30 cm^{-1} 저파수 shift, 1413 cm^{-1} 의 대칭형 C=O band는 약 10 cm^{-1} 저파수 shift, 1615 cm^{-1} 의 비대칭형 C=O band는 약 15 cm^{-1} 저파수 shift 하였다^{17,22,23)}(Fig.4).

시차주사열량분석 (DSC)

열분석에 의하여 복합체형성에 따른 glycine 분자의 열적 거동을 DSC에 의하여 검토한 결과 glycine의 용점에 따른 흡열 peak가 260°C 에서 관찰되었고, 혼합물은 각 성분의 열적거동이 그대로 반영되었으나, FGF에서는 흡열 peak가 소실되었다^{22,23)}(Fig.5).

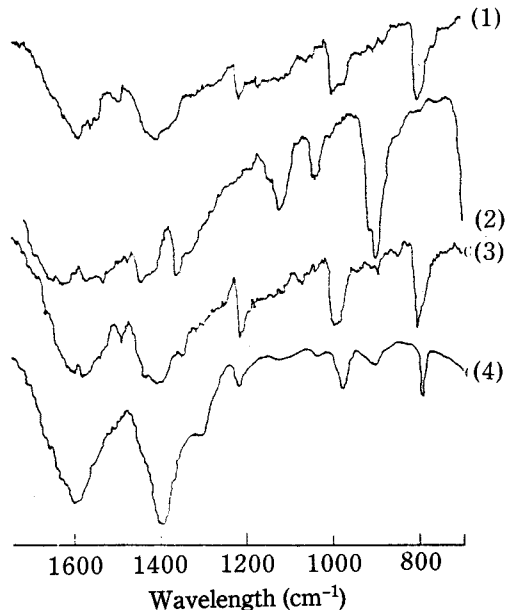


Figure 4—IR spectra of Fe-Fum and its glycine complex by KBr disk method. Key: (1), Fe-fum; (2), glycine; (3), physical mixture; (4), FGF complex

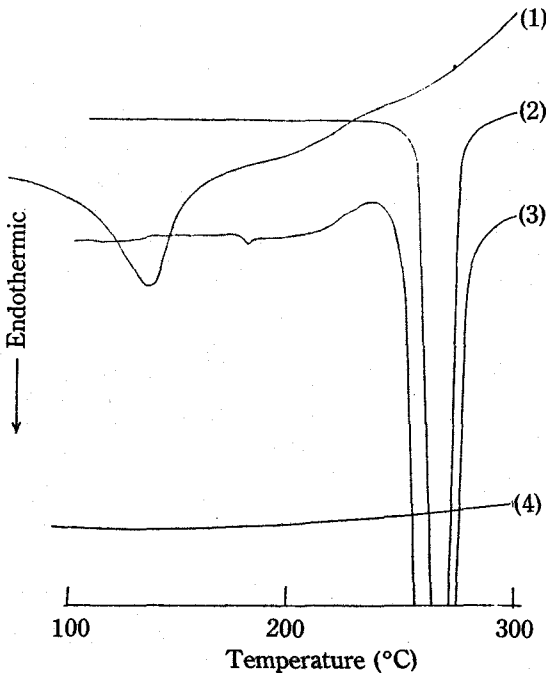


Figure 5—DSC thermograms of Fe-Fum system. Key: (1) Fe-Fum; (2), glycine; (3), physical mixture; (4) FGF complex

분말 X선회절 측정

Fe-Fum계의 혼합물의 회절 pattern은 각 성분의 회절 peak가 단순한 화로 나타났으나, FGF에서는 2θ 10.2°에서 가장 강력한 회절이 관측되고 2θ 29, 18.5와 22.3° 등에서 새로운 회절 peak가 나타났다. 즉 혼합물과 결정구조가 명확히 다른 것으로 나타났으며, 이것은 복합체 형성에 따른 구조의 안정화에 기인한다^{22,23)}(Fig.6).

정량법 검토

영국약전 방법에 따라 원료를 정량한 결과 Fe-Fum은 97.4%, glycine 99.5%, FeSO_4 83.3%로 영국약전 규격에 적합하였다. FGF는 Fe-Fum 59.6%, glycine 26.9%이었고, 이를 hydroxyethylcellulose (HEC)로 코팅한 과립은 Fe^{++} 로서 19.6%이었으며, FGS는 FeSO_4 47.3%, glycine 21.3%이며, 이를 HEC로 코팅한 것은 Fe^{++} 로서 19.6%이었다.

o-phenanthrolin 정량법¹²⁾에 따른 검량선 관계식은 $y=0.256x$ 로 측정범위내에서 비례관계가 확인되었다.

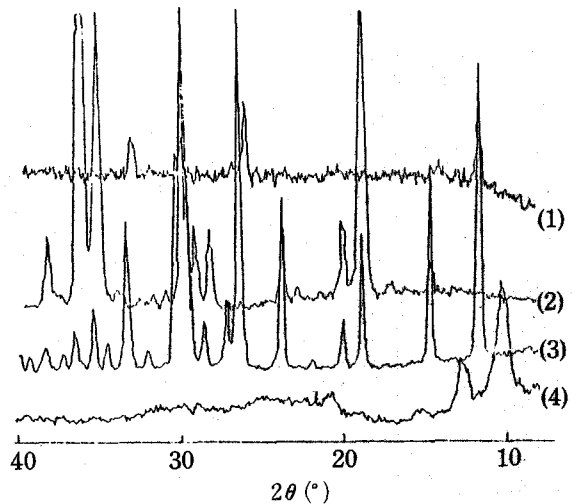


Figure 6—Powder X-ray diffraction patterns of Fe-Fum system. Key; (1), Fe-Fum; (2), glycine; (3), Fe-Fum-glycine physical mixture; (4), FGF complex.

자의부 흡수스펙트럼을 측정된 결과 흡수극대파장이 Fe-Fum계가 314 nm, FeSO_4 계가 240 nm에서 나타났으며, 각 극대파장에서의 검량선 관계식은 각각 Fe-Fum는 $y=0.4844x$, FGF는 $y=0.3669x$, FeSO_4 는 $y=1.2856x$ 및 FGS는 $y=0.5156x$ 이었다.

분배계수

증류수를 사용한 경우, 복합체의 분배계수가 일반적으로 높아져서, lipid phase로서 *n*-옥탄올을 사용하였을 때 FGF는 4.59로서 Fe-Fum의 약 100배, FGS는 0.138로서 FeSO_4 의 약 50배 정도 증가하였고, 클로로포름을 사용한 경우 FGF는 0.594로서 약 3배, 사염화탄소인 경우 FGF가 1.74로서 약 10배 증가하였다. 제 1액에서도 *n*-옥탄올의 경우 FGF는 0.967로서 Fe-Fum의 약 8.5배, FGS는 0.607로 FeSO_4 의 약 4배 증가하였고, 클로로포름과 사염화탄소의 경우 FGF는 각각 1.03과 1.05로서 Fe-Fum보다 각각 약 2.6배, 약 11배가 높게 나타났다. 제 2액에서는 *n*-옥탄올의 경우 FGF가 0.266으로 Fe-Fum보다 약 10배, 클로로포름의 경우도 42.0으로서 약 152배, 사염화탄소의 경우도 84.0으로서 약 27배 증가하였고, FGS는 클로로포름의 경우 1.49로서 FeSO_4 보다 약 2.3배, 사염화탄소의 경우 8.65로서 약 4.3배

Table I—Partition Coefficient of Fe-Fum, FeSO₄ and its Glycine Complexes at 25°C in Water, Artificial Gastric and Intestinal Juice.

Aqueous phase	Materials	Octanol	Chloroform	CCl ₄
		Aq. phase	Aq. phase	Aq. phase
Distilled water	Fe-Fum	4.15×10^{-2}	1.91×10^{-1}	2.55×10^{-1}
	FGF	4.59	5.94×10^{-1}	1.74
	FeSO ₄	7.25×10^{-2}	4.00×10^{-1}	5.28×10^{-1}
	FGS	1.38×10^{-1}	4.30×10^{-1}	6.23×10^{-1}
Artificial gastric juice	Fe-Fum	1.14×10^{-1}	4.00×10^{-1}	9.50×10^{-2}
	FGF	9.67×10^{-1}	1.03	1.05
	FeSO ₄	1.49×10^{-1}	4.10×10^{-1}	3.87×10^{-1}
	FGS	6.07×10^{-1}	6.39×10^{-1}	4.25×10^{-1}
Artificial intestinal juice	Fe-Fum	2.32×10^{-2}	2.76×10^{-1}	3.14
	FGF	2.66×10^{-1}	42.0	84.0
	FeSO ₄	5.11×10^{-2}	6.51×10^{-1}	2.53
	FGS	5.67×10^{-2}	1.49	8.65

증가하였다. 즉 glycine과 복합체를 형성하여 분배계수가 증가한 것은 유기용매에 대하여 더 친화력이 있음을 나타낸다¹⁴⁾(Table I).

용출속도

회전검체통법에 의하여 측정된 결과는 용매로 증류수를 사용하였을 때 복합체가 일반적으로 용출속도가 빨라서 본래의 물질보다 FGF가 약 4.5 배, FGS가 약 2.5배 정도 빠르고 (Fig.7) 제 1액에서 FGF가 약 2배, FGS는 약 1.5배 빠르게 용

출되었다(Fig.8). 제 2액에서도 FGF가 약 2배, FGS가 약 2배 빠르게 용출되었다(Fig.9). FGF와 FGS를 비교하여 보면 각 용매에서 모두 FGF가 비교적 용출율이 높았다.

혈중농도

경구투여후에 혈중농도 측정결과는 복합체가 일반적으로 높게 나타나므로 본래의 물질보다 흡수성이 개선된 것을 알 수 있다^{24,25)}. 즉 복합체가 30분에서 가장 높게 나타났는데, Fe-Fum의 13.3



Figure 7—Dissolution profile of Fe-Fum, FeSO₄ and its glycine complexes in water by rotating disk method. Key: ○, Fe-Fum; △, FGF; ●, FeSO₄; ▲, FGS

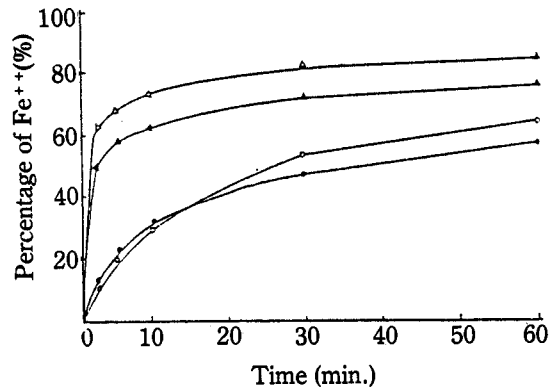


Figure 8—Dissolution profile of Fe-Fum, FeSO₄ and its glycine complexes in artificial gastric juice by rotating disk method. Key: ○, Fe-Fum; △, FGF; ●, FeSO₄; ▲, FGS

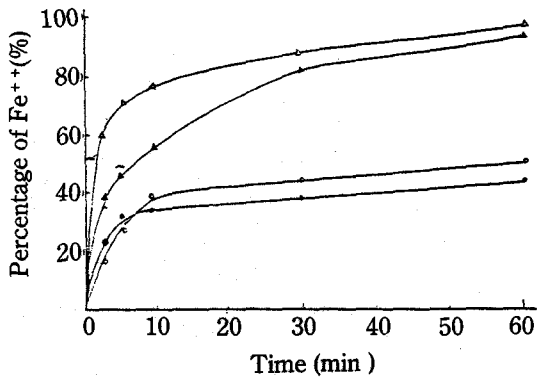


Figure 9—Dissolution profile of Fe-Fum, FeSO₄ and its glycine complexes in artificial intestinal juice by rotating disk method. Key: ○, Fe-Fum; △, FGF; ●, FeSO₄; ▲, FGS

μg/ml의 Fe⁺⁺농도에 비해 FGF는 77.7 μg/ml, FeSO₄의 19.7 μg/ml에 비해 FGS는 71.8 μg/ml로서 모두 혈중농도가 높았다(Fig.10).

그리고 각각의 AUC를 150분까지의 농도로 trapezoidal rule¹⁴⁾에 따라 산출한 결과, FGF가 134.9 μg/ml·hrs, Fe-Fum 29.2 μg/ml·hrs, FGS 96.9 μg/ml·hrs, FeSO₄ 35.3 μg/ml·hrs로서 FGF는 Fe-Fum의 4.6배, FGS는 FeSO₄의 2.7배로 복합체가 매우 높은 생체내 이용률을 나타내었다. 이들을 Fig.10에 의하여 K_a, K_e, C_{max}, CL_{tot}, AUC를 산출한 결과는 Table II와 같다.

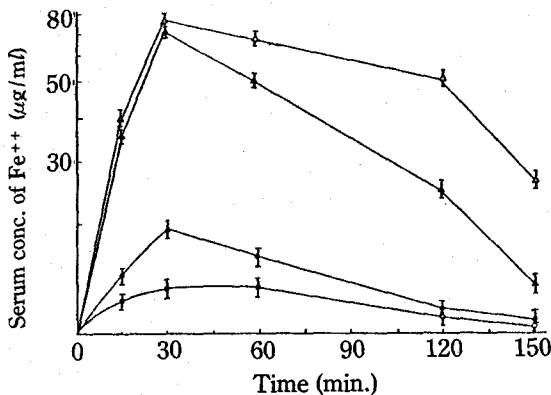


Figure 10—Semilogarithmic plot of the serum concentration profile of Fe-Fum, FeSO₄ and its glycine complexes after oral administration in rat. Key: ○, Fe-Fum; △, FGF; ●, FeSO₄; ▲, FGS

Table II—Pharmacokinetic Parameters after Oral Administration of Fe-Fum, FeSO₄ and its Glycine Complexes in Rats.

Materials	K _a (hr ⁻¹)	K _e (hr ⁻¹)	C _{max} (g/ml)	CL _{tot} (ml/hr/kg)	AUC ^{0→2.5} (g/ml·hrs)
Fe-Fum	2.77	0.194	13.6	1.370	29.2
FGF	9.15	0.392	77.0	0.297	134.9
FeSO ₄	5.94	0.318	19.5	1.333	35.3
FGS	8.93	0.696	71.0	0.413	96.9

위점막 장애

rat에 있어서의 위장장애 상태를 비교하기 위하여 50% 장애를 일으키는 용량(SUD₅₀)을 통계적으로 산출한 결과는 FGF의 1,024 mg/kg (4.18 mmol/kg)에 비하여 FGS, Fe-Fum, FeSO₄는 768 mg/kg (2.42 mmol/kg), 337 mg/kg (1.98 mmol/kg)과 320 mg/kg (2.11 mmol/kg)으로 FGF가 다른 어느 약물보다 위점막 장애가 적은 것을 알 수 있다(Table III).

Table III—Ulcerogenic Action of Fe-Fum, FeSO₄ and its Glycine Complexes on the Rat Stomach.

Materials	Dose, mg/kg	Ulcer incidence	Rate	SUD ₅₀ , mg/kg (95%CI)
Fe-Fum	128	0/5	0/9	
	256	2/5	2/6	337
	512	4/5	6/7	(±41)
	1,024	5/5	11/11	
FGF	256	0/5	0/12	
	512	1/5	1/8	1,024
	1,024	2/5	3/6	(±68)
	2,048	5/5	8/8	
FeSO ₄	128	0/5	0/10	
	256	2/5	3/7	320
	512	3/5	5/7	(±34)
	1,024	5/5	10/10	
FGS	256	0/5	0/10	
	512	2/5	2/7	768
	1,024	3/5	5/7	(±89)
	2,048	5/5	10/10	

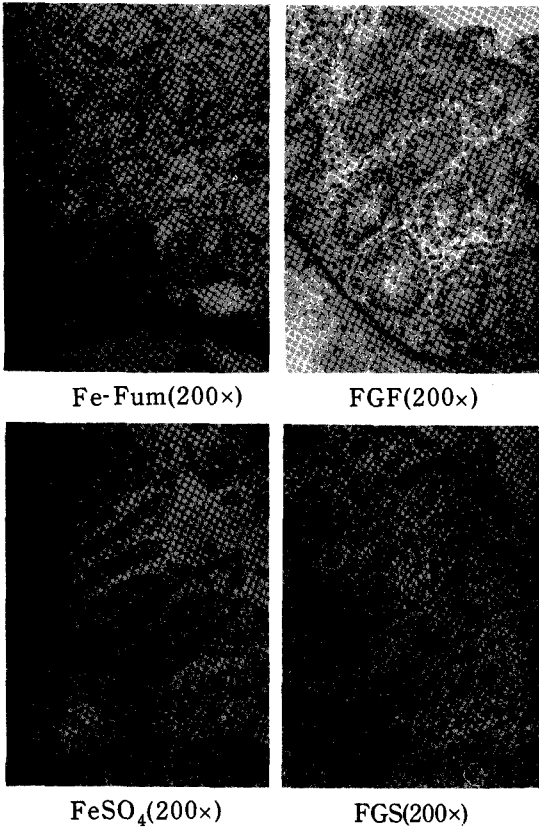


Figure 11—Microscopic scanning of mucous membrane of stomach after oral administration of drugs in rats.

위점막 손상

Fe-Fum, FeSO₄와 그들의 복합체를 일주일간 rat에 연속투여하여 위점막의 손상상태를 현미경으로 관찰한 결과, FeSO₄ 투여군은 parietal cell까지도 부분적으로 파괴되고 3 일만에 사망하였으나, FGS 투여군은 epithelial cell 부분만 파괴되고 Fe⁺⁺의 40 mg 대응량씩 투여로 4 일만에 사망

하였으며 Fe-Fum군은 1 주일후 출혈과 mucous cell의 부분적 손상이 확인되었으나, FGF 투여군은 비교적 위점막 손상이 적고, FeSO₄의 경우와 같은 소장내에서 소화가 안되고 누적된 철제의 잔류물을 발견할 수 없었다(Fig.11).

급성 독성

경구투여할 때의 급성 독성은 FeSO₄의 558 mg/kg (3.67 mmol/kg)과 FGS의 2,920 mg/kg (9.21 mmol/kg)에 비하여²⁴⁾ FGF는 3,413 mg/kg (13.9 mmol/kg)으로 안전성이 우수하였다²⁶⁾ (Table IV).

결 론

ferrous fumarate의 glycine 복합체를 만들어 ferrous fumarate, ferrous sulfate, ferroglycine sulfate와 비교 검토한 것은 다음과 같다.

1. ferrous fumarate와 glycine의 결합조성비는 1:1이며, 제조한 ferroglycine fumarate는 UV 및 IR spectroscopy, DSC, X-선회절 분석 등으로 복합체임을 확인하였다.
2. ferroglycine fumarate의 분배계수는 *n*-옥탄올-물, 및 클로로포름-제 1액 (pH 6.8)계에서 ferrous fumarate보다 약 100배 이상 높았다.
3. ferroglycine fumarate의 용출율 t₅₀%는 증류수에서 ferrous fumarate보다 약 4.5배 빠르고, 제 1액에서는 약 2배, 제 2액에서도 약 2배 빨랐다. 그리고 ferroglycine sulfate보다는 유의성있게 빨랐다.
4. 혈중농도는 C_{max}가 30분에서 나타났고, ferroglycine fumarate는 77 μg/ml, ferroglycine sulfate는 71 μg/ml, ferrous fumarate는

Table IV—Median Lethal Dose of FGF after Oral Administration.

No.	Dose, mg/kg, p.o.	Death tested	Total rate of death	LD ₅₀ , mg/kg, p.o. (95% CI)
1	2,730	0/5	0/14	
2	3,003	1/5	1/10	3,413
3	3,303	2/5	3/8	(+12)
4	3,634	3/5	6/8	
5	3,997	5/5	11/11	

13.6 $\mu\text{g/ml}$ 및 ferrous sulfate는 19.5 $\mu\text{g/ml}$ 이었다.

5. 또한 이들 물질의 AUC^{0-2.5hrs}는 ferroglycine fumarate가 134.9 $\mu\text{g/ml} \cdot \text{hrs}$, ferroglycine sulfate는 96.9 $\mu\text{g/ml} \cdot \text{hrs}$, ferrous fumarate는 29.2 $\mu\text{g/ml} \cdot \text{hrs}$ 및 ferrous sulfate는 35.3 $\mu\text{g/ml} \cdot \text{hrs}$ 이었다.

6. 위점막 장애는 ferroglycine fumarate의 SUD₅₀가 4.18 mmol/kg ferroglycine sulfate 2.42 mmol/kg, ferrous fumarate 1.98 mmol/kg 및 ferrous sulfate 2.11 mmol/kg보다 위점막 장애가 적었으며 위점막 손상도 현저하게 적었다.

7. ferroglycine fumarate의 LD₅₀은 13.9 mmol/kg이었다.

문헌

- 1) K. Nishimura, Y. Ikegami and E. Nakajima, *Pharmacia Rev.*, 8, 85 (1982)
- 2) T. Higuchi and V. Stella, *Pro-drugs as Novel Drug Delivery Systems* (American Chem. Society, Washington D.C.), 2 (1977)
- 3) E. Takagi, 特公昭 39-1405 (1964)
- 4) Y.C. Kim, 국정 및 우수처방의 해설 (약업신문사), 1961, p.267
- 5) A.R. Gennar, *Remington's Pharm. Sci.* (Pennsylvania, Mack, 17th ed., 1985, p.840
- 6) Patrick B. Deasy, *Microencapsulation & Related Drug Processes*, Marcel Dekker, Inc. (New York), 1984, p.4
- 7) J.M. Christensen, Musa Ghannam and J.W. Ayres, *J. Pharm. Sci.*, 73(11), 1529 (1984)
- 8) I. Lindarist and R. Rosenstein, *Acta Chem. Scand.*, 14(5) 1228 (1960)
- 9) P. Job, *Ann. Chem.*, 9, 113 (1928)
- 10) C.H. Giles, T.J. Rose and D.G.M. Vallance, *J. Chem. Soc.*, 3779 (1952)
- 11) K. Ikeda, K. UeKama and M. Otagiri, *Chem. Pharm. Bull.*, 23(1), 201 (1975)
- 12) 日本薬学会, 衛生試験法註解, 金原出版株式会社(東京), 1980, p.58
- 13) S. Glasstone, *loc. Cit.*, 99, 741
- 14) 村田敏郎, 有田隆一編, 生物薬剤学実験法, 南江堂(東京), 1984, p.20
- 15) M. Otagiri, T. Miyaji, K. UeKama and K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, 24(6), 1146 (1976)
- 16) H. Nogami, T. Nagai and T. Yotsuyamagi, *ibid.*, 17(3), 499 (1969)
- 17) M. Tsuruoka, *et al.*, *Yakugaku Zasshi*, 101(4), 360 (1981)
- 18) Hanano, *et al.*, *ibid.*, 91, 1277 (1971)
- 19) Y. Yokoyama, H. Nakamura, M. Shimizu, *Folia Pharmacol. Japo.*, 75, 1069 (1979)
- 20) A.L. Thakkar, P.B. Kuehn, J.H. Perrin, and W.L. Wilham, *J. Pharm. Sci.*, 61(11), 1841 (1972)
- 21) J.L. Lach and W.A. Pauli, *J. Pharm. Sci.*, 55(1), 32 (1966)
- 22) M. Nakano, *et al.*, *YakugaKu Zasshi*, 103(5), 553 (1983)
- 23) M. Kurozumi, N. Nambu and T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, 23(12) 3062 (1975)
- 24) Watter Rummel, *U.S. Patent* 2877253 (1959), 2957806 (1960)
- 25) Walter Rummel, *Brit. Patent* 802565 (1958)
- 26) R.P. Smith, *New England J. Med.*, 243, 641 (1950)