

우르소데옥시콜린산 및 케노데옥시콜린산의 베타시클로덱스트린 포접복합체의 물리화학적 특성비교

이승룡* · 정연복 · 한 건 · 신재영*

충북대학교 약학대학

(Received March 25, 1994)

Comparison of Physicochemical Properties between Ursodeoxycholic Acid and Chenodeoxycholic Acid Inclusion Complexes with β -Cyclodextrin

Seung Yong Lee*, Youn Bok Chung, Kun Han and Jae Young Shin*

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 360-763, Korea

*Central Research Institute of Il Yang Pharm. Co., Yongin-gun, Kyunggi-do 449-900, Korea

Abstract—Physicochemical properties for the inclusion complex of chenodeoxycholic acid(CDCA) and its 7 β -hydroxy epimer ursodeoxycholic acid(UDCA) with β -cyclodextrin(β -CyD) were studied. The formation of the complex in the solid state were confirmed by polarized microscopy and differential scanning calorimetry(DSC). Proton nuclear magnetic resonance(¹H-NMR)spectroscopy showed that CDCA and UDCA form an inclusion complex with β -CyD in aqueous solution. The 1 : 1 stoichiometry of the complex was determined by the continuous variation method. From DSC and ¹H-NMR studies, there were not any differences between CDCA and UDCA. Complex of CDCA and UDCA showed increase in solubility and dissolution compared with CDCA and UDCA alone, respectively. Solubility pattern of UDCA complex was pH independent but, CDCA complex was like that of CDCA. Dissolution rate increased markedly in case of UDCA complex compared with CDCA complex, especially in acidic pH value.

Keywords □ ursodeoxycholic acid, chenodeoxycholic acid, β -cyclodextrin, inclusion complex, polarized microscopy, differential scanning calorimetry, nuclear magnetic resonance spectroscopy, solubility, dissolution rate.

케노데옥시콜린산(CDCA)과 CDCA의 7 β -hydroxy epimer인 우르소데옥시콜린산(UDCA)은 콜레스테롤 담석용해에 효과가 있으며¹⁻⁹ 임상적으로는 거의 동등한 효과를 나타낸다.¹⁰ UDCA나 conjugated UDCA는 CDCA에 비하여 단순 미셀이나 혼합미셀상태에서 콜레스테롤 용해작용이 낮다고 보고되었다.¹¹⁻¹⁴ 그러나 UDCA는 콜레스테롤 결정면으로부터 meso-phase가 형성되어 용액중에서 혼탁한 상태로 존재하나 얼마후에는 CDCA와 같은 정도로 콜레스테롤이 용해된다.^{15,16} 이와 같이 콜레스테롤은 미셀화 또는 액상결정화(liquid crystallization)에 의해 용해된다고

밝혔다.¹⁷

UDCA와 CDCA 및 그의 conjugated염은 박테리아 작용에 의해 7-케토리소콜린산을 거쳐 리소콜린산(LCA)으로 전환되나 UDCA는 CDCA에 비하여 박테리아의 영향을 적게 받는다.¹⁸ 그 결과로 CDCA보다 간독성도 적게 나타난다. 담즙산이 베타시클로덱스트린(β -CyD)과 강력한 포접복합체를 형성하기 때문에 약물과 β -CyD의 포접복합체로부터 약물을 유리시켜 흡수를 증진시킨다고 보고되었다.¹⁹⁻²¹ Nakaniishi등²⁰은 체내 담즙산염이 포접복합체를 형성한 약물과 치환된다는 사실을 쥐의 소장 *in situ* 실험을 통하여 입증하였다. Frijlink 등²¹은 *in vitro* 실험에서 포접복합체로부터 약물이 담즙산염에 의해 치환되어

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

유리될 수 있음을 밝혔다. UDCA나 CDCA와 같은 담즙산과 β-CyD간의 상화작용 및 그들의 포접복합체에 관하여 Tan 등²²⁾과 저자 등²³⁾은 안정도정수를 측정함으로써 담즙산이나 담즙산염이 β-CyD과 안정한 포접복합체를 형성함을 보고하였다.

본 연구에서는 UDCA 또는 CDCA(Chart 1)와 β-CyD간의 물리적 혼합물 및 포접복합체를 제조하여 이들의 물리화학적 특성, 상호작용 및 용출거동 등을 관찰하였다.

실험방법

시약 및 기구- 베타시클로덱스트린(β-CyD)은 일본식품화공 제품을 사용하였고 우르소데옥시콜린산(UDCA)과 케노데옥시콜린산(CDCA)은 Sigma Chemical Co.의 시약급을 사용하였다. 완충용액은 USP의 표준 완충용액을 사용하였으며 기타의 시약들은 특급 또는 일급품을 썼다. 기기로는 분무건조기(HI-TEC, Niro Atomizer, Denmark), 편광현미경(SM-LUX-POL, Leitz, Germany), 시차열분석기(V2.2A 9900, Dupont, USA), 적외선분광광도계(IFS 48, Burker, Germany), 핵자기공명스펙트럼장치(AC 200, Buker, Germany. and Jeol 400 MHz, Japan), HPLC System(Waters, USA), 용출시험기(NV-2F, Toyama, Japan), 진탕 항온수조(EI-10, Eyela, Japan) 등을 사용하였다.

용해도 측정- 10 ml 공전시험관에 완충용액(pH 3.0~9.0) 5 ml를 취하고 β-CyD의 농도가 4 mM에서 50 mM이 되도록 한 후 60°C로 가열하여 용해시킨 다음 실온으로 방치하여 과량의 UDCA 및 CDCA를 가한 다음 20°C의 진탕항온수조(20회/분)에서 24시간 진탕시킨 후 0.45 μm 멤브레인필터로 여과하였다. 여액을 사용한 완충액으로 희석하여 다음의 HPLC법으로 UDCA와 CDCA를 분석하고 Higuchi 등²⁴⁾의 방법에 따라 pH에 따른 용해도상도를 작성하였다.

담즙산과 β-CyD의 분석- 담즙산과 β-CyD의 분석은 HPLC를 사용하여 굴절률 검출기로 분석하였으며 담즙산은 μ-Bondapak C₁₈ 칼럼과 이동상으로 아세트니트릴·물·빙초산혼합액(60 : 39 : 1)을 사용하였으며 유속은 1.0 ml/min로 하였다. UDCA와 CDCA의 피크 유지시간은 각각 5.58분과 8.50분이었²³⁾ β-CyD는 Canrohydrate 칼럼과 이동상 용매는

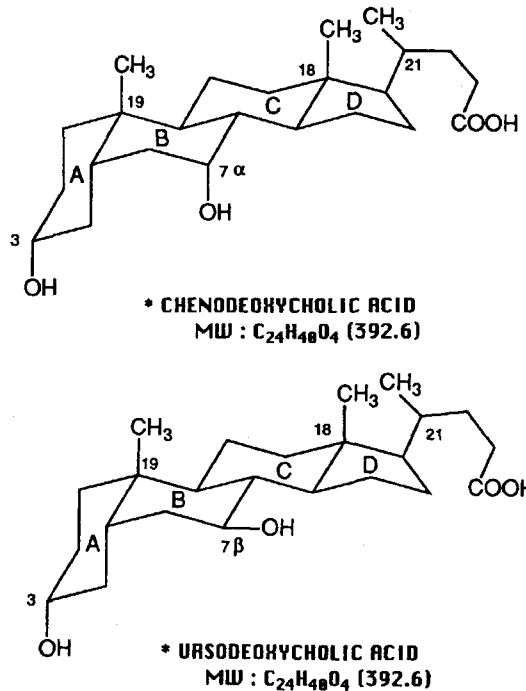


Chart 1—Chemical structure of CDCA and UDCA.

이세토니트릴·물·빙초산혼합액(75 : 24 : 1)을 사용하고 유속은 2.0 ml/min로 하였다. 이때 β-CyD의 유지시간은 14.28분 이었다.²³⁾

포접복합체(Inclusion Complex, IC)의 제조- 500 ml 플라스크에 증류수 400 ml를 가하고 β-CyD 25.53 g과 UDCA 5.89 g(몰비 3 : 2)을 넣고 37°C에서 교반 용해 후 분무건조하여 UDCA-IC를 제조하였고, β-CyD 5.67 g과 CDCA 1.96 g(몰비 1 : 1)을 넣고 37°C에서 교반하여 용해시킨 후 분무건조하여 CDCA-IC를 제조하였다.

물리적 혼합물(Physical Mixture, PM)의 제조- 포접복합체 제조시와 같은 몰비율로 UDCA와 β-CyD(2 : 3), CDCA와 β-CyD(1 : 1)를 평량하여 유발에서 5분간 혼합 연마하여 UDCA-PM과 CDCA-PM을 제조하였다.

현미경 관찰- UDCA, CDCA, UDCA-PM, CDCA-PM, UDCA-IC, CDCA-IC와 β-CyD를 각각 편광 현미경하에서 100배의 비율로 관찰하고 사진을 찍었다.

시차주사열분석- UDCA, CDCA, UDCA-PM, UDCA-PM, UDCA-IC, CDCA-IC와 β-CyD에 대하여 열분석기(Dupont DSC V2.2A 9900)를 사용하여 50

ml/min로 질소가스를 주입하여 10°C/min으로 승온하면서 100~250°C까지 열분석을 행하였다.

적외선흡수 스펙트럼의 측정—UDCA, CDCA, UDCA-PM, CDCA-PM, UDCA-IC, CDCA-IC와 β-CyD에 대해 적외선 브롬화칼륨 정제법으로 검체를 제조하여 흡수 스펙트럼을 측정하였다.

핵자기 공명 측정—UDCA, CDCA 및 UDCA-IC, CDCA-IC와 β-CyD를 핵자기공명스펙트럼측정장치를 사용하여 DMSO와 pH 9.2 D₂O에서의 ¹H-NMR을 측정하였다. 또한 UDCA, CDCA와 β-CyD의 비율 r ([β-CyD]/[담즙산]+[β-CyD])을 변화시키면서 UDCA와 CDCA의 피크가 이동되는 과정을 관찰하였다.

포집복합체의 용해도—10 ml 공진시험관에 pH 3.0~9.0의 완충용액 5 ml를 취하여 과량의 UDCA-IC와 CDCA-IC를 가하고 마개를 하여 20°C의 진탕항온수조(20회/분)에서 24시간 진탕용해 후 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하고 필요시 여액을 완충액으로 희석하여 UDCA, CDCA 및 β-CyD를 HPLC법으로 정량하고 용해도를 산출하였다.

용출시험—UDCA, CDCA-PM 및 UDCA-IC와 CDCA, CDCA-PM 및 CDCA-IC를 UDCA와 CDCA 로써 75 mg에 해당하는 양을 취하여 Hydraulic press(Graseby Sepecac, England) 200 kg/cm²의 압력하에 직경 12 mm의 평판디스크를 만들어 사용하였다. 용출액으로는 pH 1.2와 pH 7.2의 USP 표준완충액 200 ml를 사용하고 37 ± 0.5°C 및 50 rpm의 조건에서 대한약전 용출시험법 제 1법에 따라 시험하고 일정시간마다 용출액 2.0 ml를 취하고 동량의 완충액을 주가하였다. 채취한 용출액을 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하고 HPLC를 행하여 얻은 크로마토그램으로부터 UDCA와 CDCA의 양을 정량하였다.

결과 및 고찰

용해도상도—수용액중에서 β-CyD에 대한 UDCA와 CDCA의 용해도상도는 모두 Higuchi 등²⁰의 분류에 의한 A_L형이었으며 직선의 기울기는 UDCA 0.67, CDCA 1.05로서 수용액중 담즙산과 β-CyD의 결합 몰비율은 UDCA는 2 : 3, CDCA는 1 : 1의 양상을 나타내었고, 포화용해도는 UDCA-IC가 6.98%, CDCA-IC는 2.12%로서 UDCA-IC의 용해도가 상대

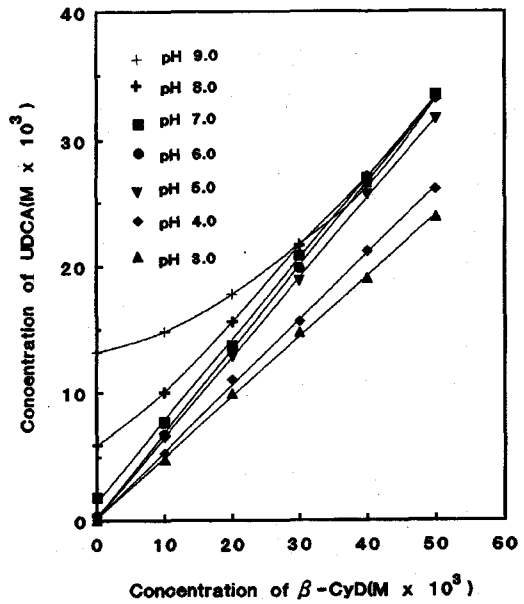


Fig. 1—Phase solubility diagram of UDCA at different pH value.

적으로 컸으며 (1)식으로 산출한 안정도정수(K_c)는 UDCA가 16700 M⁻¹, CDCA가 88200 M⁻¹로 복합체가 매우 용이하게 형성됨을 알 수 있다.²³⁾

$$\text{안정도정수}(K_c) = \frac{\text{slope}}{\text{intercept}(1 - \text{slope})} \quad (1)$$

pH 3.0~9.0 완충용액에서 β-CyD의 농도 변화에 따른 UDCA와 CDCA의 용해도상도를 각각 Fig. 1 및 Fig. 2에 나타내었다.

UDCA는 pH 3.0~pH 9.0의 범위에서 β-CyD의 농도를 50 mM까지 용해시켰다. 용해도상도의 기울기는 pH의 증가에 따라 커졌으나 pH 5 이상에서는 기울기는 거의 일정하였다. CDCA의 경우는 pH 6.0 이하에서는 β-CyD가 20 mM농도까지 용해되었으나 pH 7.0에서는 30 mM, pH 8.0에서는 35 mM, pH 9.0에서는 40 mM까지 β-CyD의 용해도를 pH의존적으로 증가시켰다. 용해도상도의 기울기는 UDCA와 마찬가지로 pH 6까지는 증가하였으나 그 이상에서는 거의 일정하였다. 약물과 β-CyD간의 용해도상도는 난용성 약물의 경우 일반적으로 낮은 농도에서는 A_L형의 직선성을 나타내어 이 부분으로부터 안정도정수를 구하게 되지만 UDCA와 CDCA에 있어서는 pH 6.0까지는 그 자체의 용해도가 낮아 거의 원점을 지나는

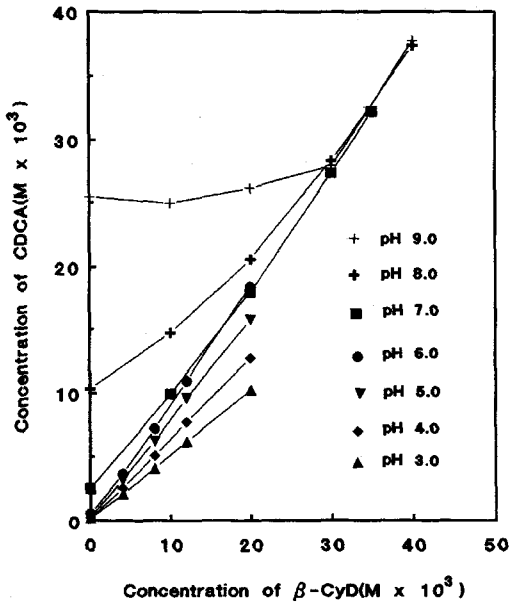


Fig. 2—Phase solubility diagram of UDCA at different pH value

직선을 이루어졌지만 pH 7.0 이상에서는 약물 자체의

Table I—Molar ratio of β -CyD/UDCA and β -CyD/CDCA obtained from phase solubility diagram at different pH

	pH 3.0	pH 4.0	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0	pH 9.0
UDCA	2.122	1.932	1.586	1.506	1.522	1.700	1.730
CDCA	1.963	1.574	1.272	1.079	1.019	1.107	1.118

용해도가 증가하여 낮은 β -CyD 농도 구간에서는 직선을 이루지 못하고 어느 농도 이상이 되었을 경우 비로소 직선을 이루게 되었다. pH에 따른 UDCA, CDCA와 β -CyD의 몰비를 $r(r = [\beta\text{-CyD}]/[\text{UDCA}], \text{또는 CDCA})$ 을 측정하여 Table I에 나타내었다. pH 6.0과 pH 7.0에서의 β -CyD에 대한 UDCA와 CDCA의 r 이 가장 낮았으며 각각 1.506, 1.019이었다.

포접복합체의 제조—포접복합체의 일반적인 제조 방법은 약물이 어느정도 물에 녹는 경우 직접 β -CyD 수용액 중에 직접용해하여 수시간 혹은 수일간 교반후 동결건조하여 제조한다.²⁵⁻²⁷⁾ 난용성 약물인 경우 β -CyD 수용액에 암모니아와 같은 적당한 첨가제를 가하고 약물을 용해시켜 동결건조하거나, 약물이 용해되어 유기용매에 녹여 β -CyD 수용액에 교반하여

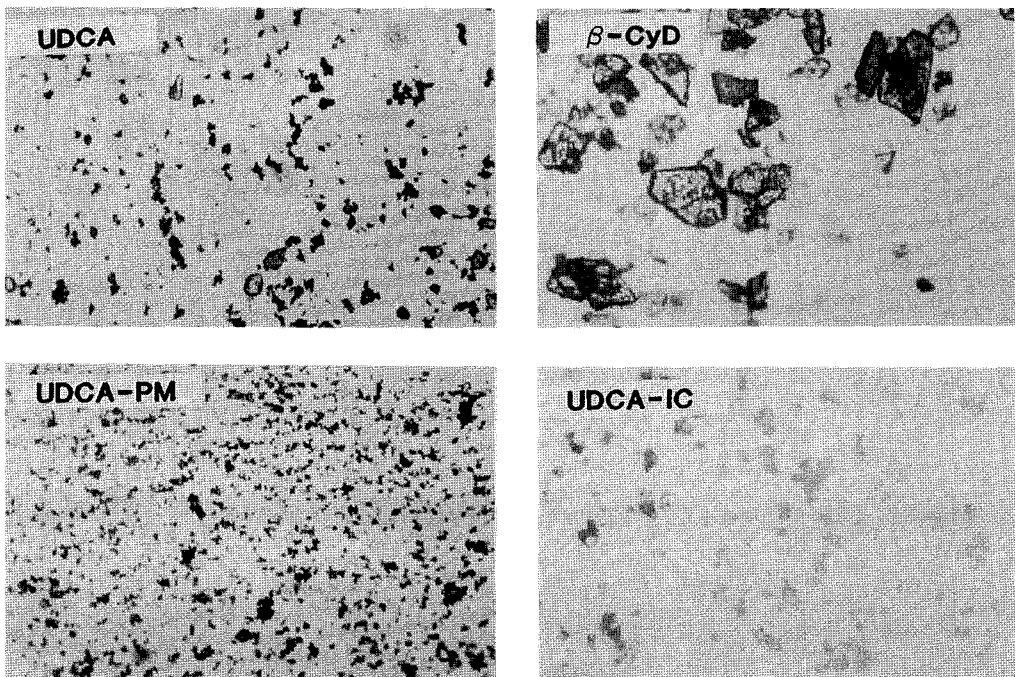


Fig. 3—Polarized microphotographs of UDCA, B-CyD UDCA-PM and UDCA-IC($\times 100$).

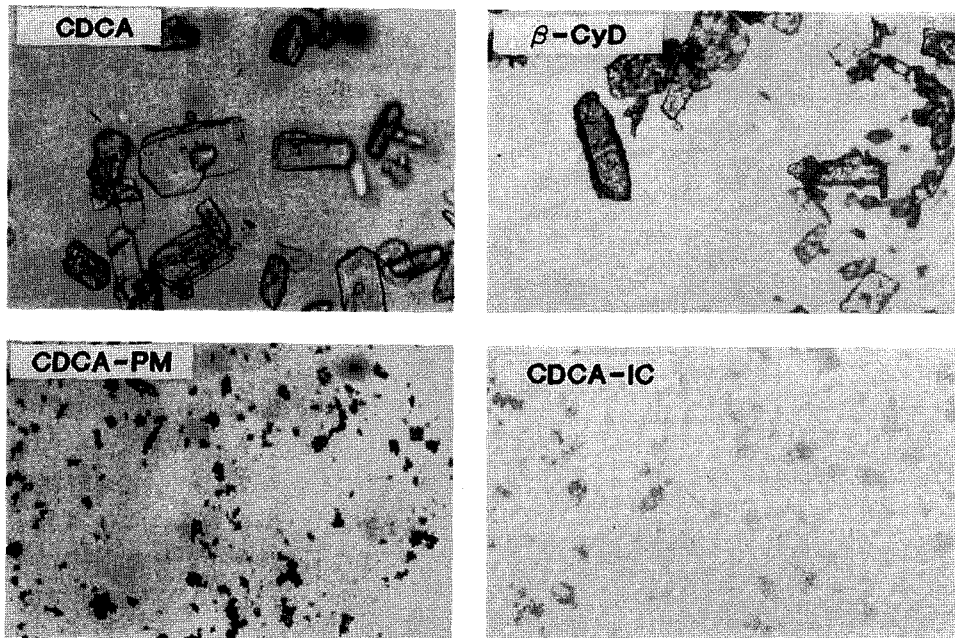


Fig. 4—Polarized microphotographs of CDCA, β -CyD CDCA-PM and CDCA-IC($\times 100$).

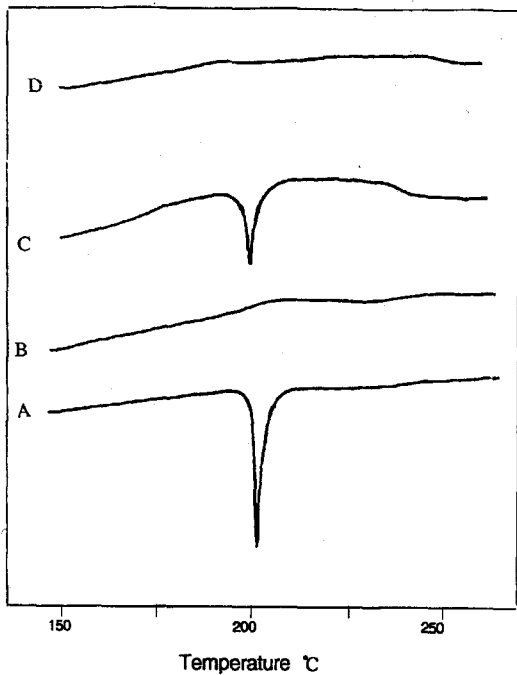


Fig. 5—DSC thermogram of UDCA(A), β -CyD(B), physical mixture(C) and complex(D).

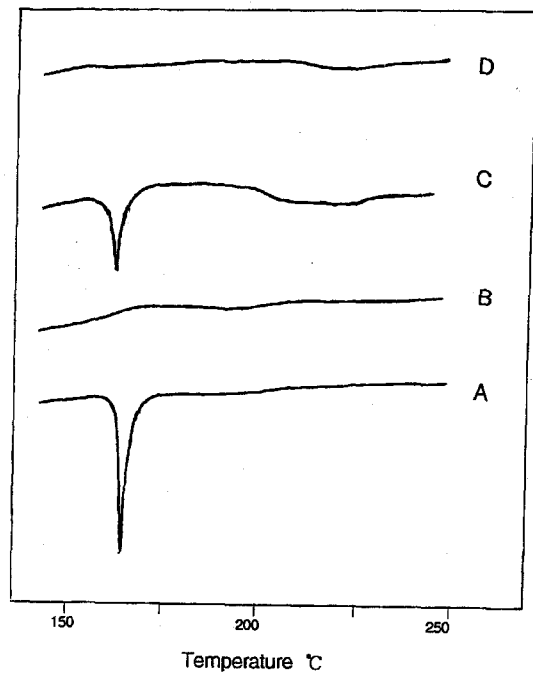


Fig. 6—DSC thermogram of CDCA(A), β -CyD(B), physical mixture(C) and complex(D).

가하여 생성되는 포접화합물을 얻어 건조하여 제조한다.²⁸⁻³⁰⁾ UDCA와 CDCA 자체는 극히 난용성이지만 이들을 β-CyD 수용액에 가하면 UDCA나 CDCA는 쉽게 용해되는 특성이 있었다. 따라서 포접복합체는 물에 직접 일정량의 β-CyD와 UDCA 또는 CDCA를 넣어 용해시킨 후 분무건조방법으로 제조하였다.

현미경 관찰—UDCA, CDCA, β-CyD와 CDCA-PM, CDCA-PM, UDCA-IC, CDCA-IC를 편광현미경으로 100배 확대한 사진을 Fig. 3과 4에 나타내었다. UDCA, CDCA, β-CyD의 경우는 결정을 볼 수 있었으며 사용된 CDCA는 UDCA보다 큰 결정을 이루고 있었다. UDCA-PM과 CDCA-PM은 β-CyD와 함께 기계적 힘을 가해 분쇄된 것이므로 결정성은 그대로 존재하였으나 결정이 미세화 된 것을 볼 수 있었다. UDCA-IC와 CDCA-IC에서는 결정은 거의 볼 수 없으며 무정형의 분말상태로 존재하였다.

시차 주사열 분석—DSC thermogram 상에서 UDCA는 199°C 부근에서 CDCA는 162°C 부근에서 강한 흡열피크가 나타났다. UDCA-PM과 CDCA-PM에서는 피크의 강도가 다소 약화되었다. 반면에 UDCA-IC와 CDCA-IC에서는 용융에 의한 흡열피크를 볼 수 없었는데 이는 복합체 형성에 의해 분자분산을 이루었거나 또는 분무건조에 따른 무정형 상태에 기인하는 것으로 사료되었다.³¹⁾(Fig. 5,6)

적외선 흡수 스펙트럼—1500 cm⁻¹ 이하의 저과장 영역에서는 적외선 스펙트럼은 대부분 β-CyD의 스펙트럼 band에 의해 쉽게 은폐되어 버리므로³²⁾ IR에 의한 포접복합체의 확인은 카르보닐 도는 설폰닐과 같은 특징적 band를 갖는 약물의 확인에 한정되어 있다.³³⁾ UDCA와 CDCA에서 특징 있는 피크는 1720 cm⁻¹ 부근에 나타나는 카르보닐밴드이다. 포접복합체나 물리적혼합물 사이의 차이는 찾아볼 수 없었으며 카르보닐밴드의 변화도 없었다. 이로부터 UDCA와 CDCA의 경우 24위치의 카르복실기의 부분이 β-CyD의 공동에 봉입되지 않았음을 확인할 수 있었다.

핵자기공명 스펙트럼—DMSO용액에서의 UDCA-IC와 CDCA-IC의 ¹H-NMR 스펙트럼은 UDCA, CDCA, β-CyD 스펙트럼과 비교할 때 특징적인 β-CyD의 1번부터 6번 탄소의 -OH proton 및 담즙산의 18,19 및 21번 탄소에 위치한 C₁₈, C₁₉ 및 C₂₁의 -CH₃의 proton의 shift 현상이 나타나지 않았다. 이는 UDCA와 CDCA는 β-CyD와 DMSO용액에서의 포접

화합물을 형성하지 못하고, 포접화합물도 DMSO용액에서는 쉽게 포접이 파괴되어 단순한 두 물질이 용해되어 있는 상태로 변함을 알 수 있었다.

β-CyD와 약물의 포접복합체에서 일반적으로 β-CyD의 3번과 5번 탄소의 proton이 upfield shift되며, Tan 등²⁰⁾은 담즙산염과 β-CyD의 복합체에서 β-CyD의 6개의 proton과 CDCA에서 18,19 및 21번 탄소의 위치한 proton의 강한 shift를 확인하였다. β-CyD의 1번에서 6번 탄소위치에 있는 proton의 shift와 UDCA, CDCA에서의 singlet peak를 나타내는 18,21 위치 탄소원자의 CH₃와 doublet peak를 나타내는 19 위치 탄소원자의 CH₃의 proton의 shift를 Fig. 7과 Table II, III에 나타내었다.

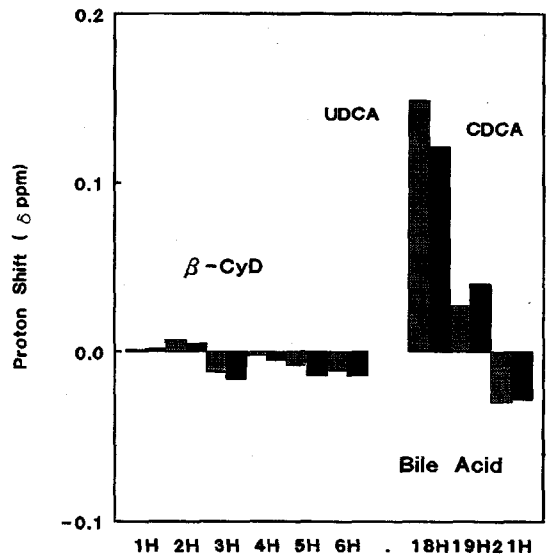


Fig. 7—Proton shift induced by β-CyD and bile acid (400 MHz NMR).

Table II—¹H-NMR proton shifts of β-Cyclodextrin induced by UDCA and CDCA

	β-CyD	UDCA-IC		CDCA-IC	
	ppm	ppm	(Δppm)	ppm	(Δppm)
1-H	5.011	5.012	(0.001)	5.013	(0.002)
2-H	3.571	3.578	(0.007)	3.576	(0.005)
3-H	3.912	3.900	(-0.012)	3.896	(-0.016)
4-H	3.538	3.536	(-0.002)	3.533	(-0.005)
5-H	3.836	3.825	(-0.011)	3.822	(-0.014)
6-H	3.811	3.803	(-0.008)	3.797	(-0.014)

Table III—¹H-NMR proton shifts of UDCA and CDCA induced by β-Cyclodextrin

	CDCA	CDCA-IC	UDCA	UDCA-IC
	ppm	ppm (Δppm)	ppm	ppm (Δppm)
18-H	0.699	0.820 (0.121)	0.698	0.847 (0.149)
19-H	0.915	0.955 (0.040)	0.961	0.988 (0.027)
21-H	0.955	0.927 (-0.028)	0.950	0.938 (-0.012)

UDCA-IC와 CDCA-IC의 경우 β-CyD에서의 proton shift는 18,19 및 21번 위치에서의 UDCA와 CDCA의 proton shift에 비하여 훨씬 적은 것이 확인되었다. 18번과 19번 탄소에 위치한 proton의 강한 shift로 보아 UDCA-IC와 CDCA-IC에서 β-CyD분자는 UDCA와 CDCA의 steroid의 C환에 위치함을 알 수 있었다. Tan 등²²⁾은 CDCA는 12위치에 -OH가 없기 때문에 구조적 방해받지 않고 C환에 위치할 수 있다고 하였다.

UDCA 또는 CDCA와 β-CyD의 비율 $r(r = [\beta\text{-CyD}]/[\text{담즙산}] + [\beta\text{-CyD}])$ 을 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7로 변화시켜가면서 얻은 200 MHz ¹H-NMR 스펙트럼으로부터 UDCA와 CDCA의 특징적인 2개의 peak의 변화를 Fig. 8에 나타내었다. 하나는 C₁₈에 위치한 -CH₃의 singlet peak이며 다른 하나는 C₁₉의

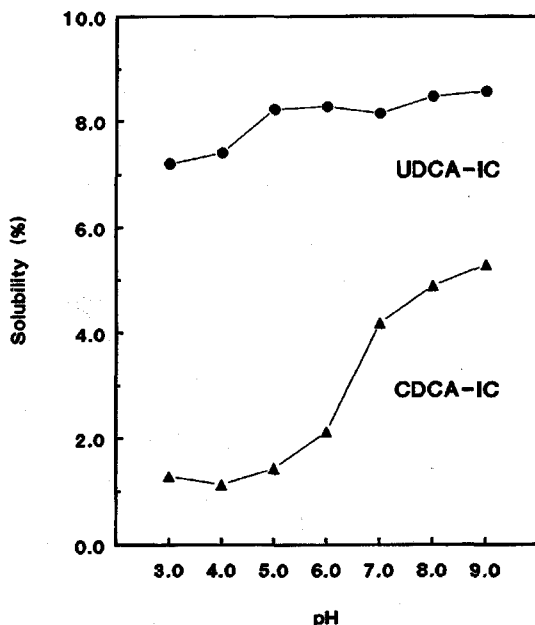


Fig. 9—Solubility of UDCA-IC and CDCA-IC at different pH value.

-CH₃ doublet peak와 C21의 -CH₃ singlet peak가 분리되지 않고 겹쳐진 상태의 혼합피크이었다. UDCA와 CDCA의 복합 peak는 거의 변화가 없다가 r의 값이 0.5가 되었을 때 완만하게 shift하였으며 그 이상에서는 약간의 shift양상을 보였다.

UDCA에서의 18번 탄소의 proton은 r이 0.2일 때 부터 UDCA자체의 피크와 UDCA-IC의 새로운 peak가 동시에 나타났다가 r=0.5 즉 β-CyD와 UDCA가 1:1일때 UDCA의 18번 탄소의 proton peak는 사라졌으며 CDCA에서도 UDCA와 같은 현상이 나타났다. 이와 같이 r이 0.5보다 작을 때 UDCA와 UDCA-IC, CDCA-IC의 18번 탄소의 proton peak가 공존한다는 것은 UDCA 또는 CDCA가 β-CyD와 포접복합체를 형성하면 안정화되어 포접되지 않고 남아있는 UDCA와 CDCA의 교환이 일어나기 어렵다는 것을 시사하였다. 또한 r이 0.5보다 크면 UDCA와 CDCA는 모두 안정된 포접복합체를 형성하는 것으로 미루어 UDCA와 CDCA는 β-CyD와 1:1몰비로 상경적으로 결합함을 알 수 있었다.

UDCA-IC와 CDCA-IC의 용해도—UDCA-IC와 CDCA-IC에 대해 pH 3.0부터 pH 9.0까지의 완충용

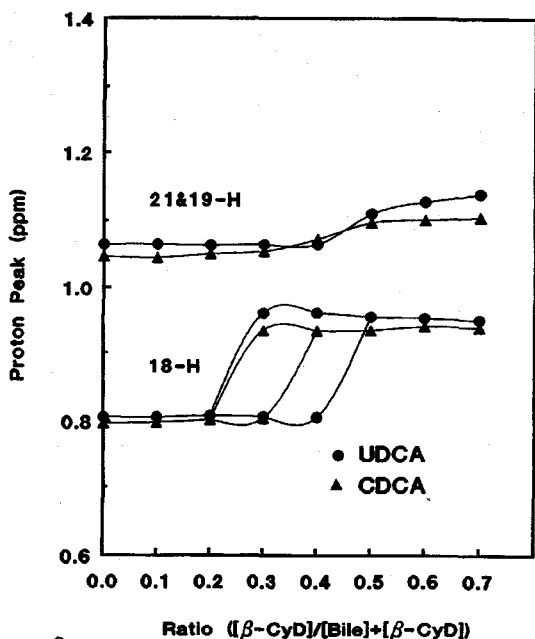


Fig. 8—Proton shift induced by β-CyD(200 MHz NMR).

Table IV—Solubility of UDCA, CDCA, UDCA-IC and CDCA-IC at different pH unit: %

	pH 3.0	pH 4.0	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0	pH 9.0
UDCA	0.002	0.003	0.007	0.021	0.073	0.234	0.531
UDCA-IC							
as UDCA	1.32	1.44	1.57	1.56	1.57	1.59	1.59
as complex	7.20	7.40	8.22	8.27	8.14	8.46	8.56
CDCA	0.001	0.003	0.005	0.018	0.084	0.374	0.990
CDCA-IC							
as CDCA	0.12	0.21	0.34	0.53	1.07	1.24	1.34
as complex	1.28	1.12	1.43	2.12	4.18	4.88	5.28

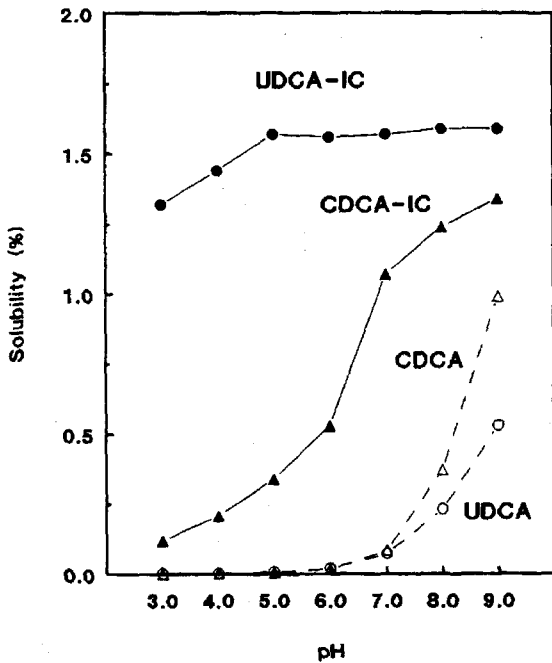


Fig. 10—Comparison of UDCA and CDCA solubility with UDCA-IC and CDCA-IC as bile acid.

액에서의 용해도를 측정하여 Fig. 9에 나타내었고, 복합체 중 UDCA와 CDCA의 용해도 및 UDCA, CDCA 단독의 용해도를 Fig. 10에 나타내었으며 Table IV에 수치로 비교하였다.

UDCA-IC는 pH에 비의존적으로 거의 일정한 용해를 나타냈으며 CDCA-IC의 경우는 CDCA에 비해 같은 pH에서 용해도는 증가되었지만 CDCA와 같이 pH의존성의 용해도 양상을 나타내었다.

용출시험—UDCA, UDCA-PM, UDCA-IC와 CDCA, CDCA-PM, CDCA-IC에 대하여 pH 1.2와 pH 7.2 완충용액에서 용출시험을 행한 결과를 Fig. 11, 12

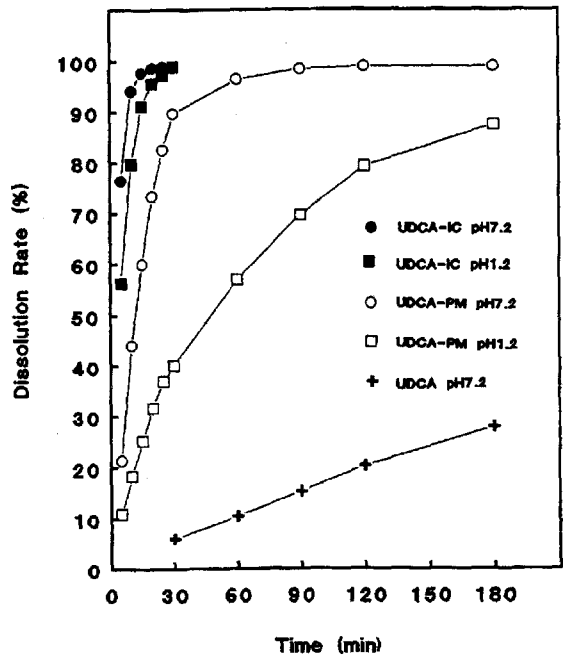


Fig. 11—Dissolution profiles of UDCA-IC, UDCA-PM and UDCA at pH 1.2 and pH 7.2.

에 나타내었다.

UDCA-IC는 pH 1.2와 pH 7.2에서 30분 이내에 거의 완전히 용출되었으며 UDCA-PM의 경우 pH 7.2에서 90분 이내에 98.5% 용출되었고 pH 1.2에서는 180분에 87.5%의 용출률을 보였다. 반면 UDCA는 pH 7.2에서는 180분에 27.8% 용출되었으나 pH 1.2에서는 용출률을 측정하지 못하였다. CDCA-IC는 pH 7.2에서와 pH 1.2에서 각각 180분 및 360분에 98.5%가 용출되었고 CDCA-PM은 pH 7.2에서 360분에 98.5%가 용출되었고 pH 1.2에서 360분에 85.2%가 용출되었다. CDCA는 pH 7.2에서 360분에 37.7

Table V—The time($t_{50\%}$) to release 50% of UDCA and CDCA from the disk during dissolution test unit : mins

	UDCA	UDCA-PM	UDCA-IC	CDCA	CDCA-PM	CDCA-IC
pH 1.2	N.D.	47.68	4.44	N.D.	137.76	99.71
pH 7.2	327.53*	11.86	3.22	472.42*	71.10	26.46

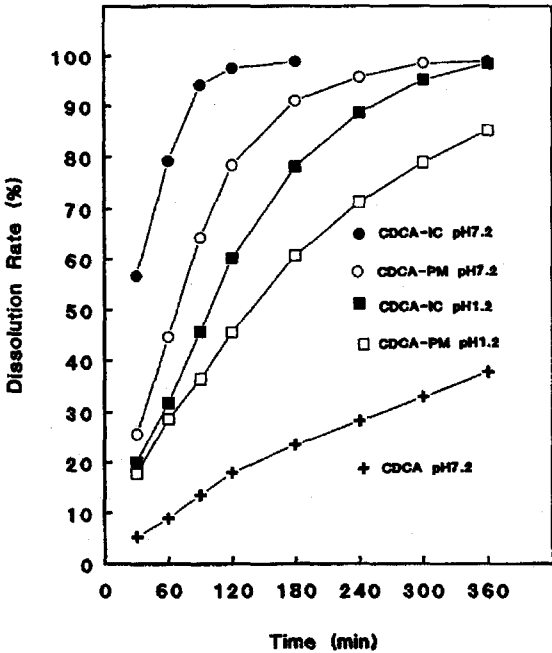


Fig. 12—Dissolution profiles of CDCA-IC, CDCA-PM and CDCA at pH 1.2 and pH 7.2.

%가 용출되었다. UDCA의 경우는 UDCA-IC가 pH에 관계없이 UDCA-PM보다 용출률이 빨랐으나 CDCA에 있어서는 CDCA-IC의 pH 1.2에서의 용출보다 pH 7.2에서의 CDCA-PM의 용출이 빨랐다. UDCA-PM과 CDCA-PM은 각각 UDCA, CDCA보다 용출이 빨랐다. 이는 UDCA-PM과 CDCA-PM의 용해도의 경우 수용액중에서 β -CyD복합체를 형성하면서 용해되므로 용해도가 커져 용출이 향상됨을 알 수 있었다. 용출곡선으로부터 50%의 UDCA와 CDCA가 방출 유리되는 시간 $T_{50\%}$ 산출하여 Table V에 표시하였다.

UDCA-IC의 경우 용출률이 현저하게 증가하였음을 알 수 있었다. UDCA-IC가 CDCA-IC보다 현저히 용출속도가 빠른 것은 두포접복합체의 hydrophilicity, 용해도 및 습윤성의 차이에서 오는 것으로 사료되었다.

이상과 같이 β -CyD에 대한 UDCA, CDCA의 용해도상도와 이들의 β -CyD 포접복합체인 UDCA-IC와 CDCA-IC의 DSC, IR, $^1\text{H-NMR}$, 용해도, 용출시험을 통해 비교연구한 결과 이들 포접복합체의 적외부흡수스펙트럼, 핵자기공명스펙트럼, DSC thermogram 등의 시험결과에서 UDCA-IC와 CDCA-IC 사이에는 차이를 나타내지 않았다. 또한 용해도상도로부터 산출한 안정도정수도 다른 담즙산이나 다른 약물의 안정도정수보다 매우 컸으며 두 물질간에 차이가 없었다. 용해도 및 용출에 있어서는 UDCA-IC가 현저히 높았다. UDCA-IC의 용해도는 pH 비의존성으로 나타났다고 CDCA-IC는 CDCA와 마찬가지로 pH의 증가에 따라 용해도가 증가하였다.

결론

UDCA-IC와 CDCA-IC에 대한 편광현미경, 시차주사열 분석, 핵자기공명 스펙트럼을 통하여 액상과 고상에서 포접복합체 형성을 확인하였으며, 핵자기공명 스펙트럼으로부터 UDCA와 CDCA는 β -CyD와 1 : 1의 복합체를 형성함을 확인하였다. pH에 따른 용해도의 양상은 CDCA-IC가 CDCA와 같이 pH 증가에 따라 용해도가 증가하였으나 UDCA-IC는 pH 비의존적으로 거의 일정한 용해도의 증가를 보였다. 용출의 경우 용해도와 같은 특성을 보였으며 UDCA-IC의 용출이 CDCA-IC에 비하여 현저한 향상을 보였다.

문헌

- 1) R. G. Danzinger, A. F. Hofmann, J. L. Schoenfield and J. L. Thistle, Dissolution of cholesterol gallstones by chenodeoxycholic acid, *N. Engl. J. Med.*, **286**, 1 (1972).
- 2) J. L. Tistle and A. F. Hofmann, Efficacy and specificity of chenodeoxycholic acid therapy for dissolving gallstones, *N. Engl. J. Med.*, **289**, 655 (1973).

- 3) A. F. Hofmann, Medical treatment of cholesterol gallstones by bile desaturating agents, *Hepatology*, **4**, 199S (1984).
- 4) L. J. Schoenfield, J. M. Lachin, The Steering Committee and The National Cooperative Gallstone Study Group, Chenodiol for dissolution of gallstone: The national cooperative gallstone study, *Ann. Intern. Med.*, **95**, 257 (1981).
- 5) S. G. Tint, G. Salen, A. Colalillo, D. Graber, D. Verga, J. Speck and S. Sheffer, Ursodeoxycholic acid: A safe and effective agent for dissolving Cholesterol gallstone, *Ann. Intern. Med.*, **97**, 351 (1982).
- 6) Tokyo Cooperative Gallstone Study Group, Efficacy and indications of ursodeoxycholic acid treatment for dissolving gallstones, *Gastroenterology*, **78**, 542 (1980).
- 7) A. Stiehl, R. Raedsch, P. Czygan, R. Gotz, C. H. Manner, S. Walker and B. Kommerell, Effect of biliary bile acid composition on biliary cholesterol saturation in gallstone patients treated with chenodeoxycholic acid and/or ursodeoxycholic acid, *Gastroenterology*, **79**, 1192 (1980).
- 8) R. Roerkasse, H. Fromm, M. Malavolti, A. K. Tunuguntla and S. Ceryak, Gallstone dissolution treatment with a combination of chenodeoxycholic and ursodeoxycholic acid, *Digest. Dis. Sci.*, **31**, 1032 (1986).
- 9) M. Podda, M. Zuin, P. M. Battezzati, C. Ghezzi, C. de Fazio and M. L. Dioguardi, Efficacy and safety of a combination of chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid for gallstone dissolution: A comparison with ursodeoxycholic acid alone, *Gastroenterology*, **96**, 222 (1989).
- 10) H. Fromm, J. W. Roat, V. Gonzalez, R. P. Sarva and S. Farivar, Comparative efficacy and side effects of ursodeoxycholic and chenodeoxycholic acids in dissolving gallstones, *Gastroenterology*, **85**, 1257 (1983).
- 11) H. Igimi, T. Noriyuki, I. Yuichi and S. Hidehiko, Ursodeoxycholate *in vitro* cholesterol solubility and changes of composition of human gallbladder-bile oral treatment, *Life Sci.*, **21**, 1373 (1977).
- 12) M. C. Caray, N. A. Mazer and G. B. Benedek, Novel Physical-chemical properties of ursodeoxycholic acid(UDCA) and its conjugates: Relevance to gallstone dissolution in man, *Gastroenterology*, **72**, 1036 (1977).
- 13) M. C. Carey and G. Ko, The importance of total lipid concentration in determining cholesterol solubility in bile and the development of critical tables for calculating "percent cholesterol saturation" with a correction factor for ursodeoxycholate rich bile, In G. Paumgartner, A. Stiehl and W. Gerok (eds.), *Biological Effects of Bile Acids*, MTP Press, Lancaster, England, 1979, pp. 299-308.
- 14) P. H. Lee, W. I. Higuchi and N. A. Mazer, cholesterol mono-hydrate dissolution rates and solubilities in aqueous taurocholate, taurochenodeoxycholate and tauroursodeoxycholate solutions: A comparative study, *J. Colloid Interface Sci.*, **137**, 48 (1990).
- 15) O. I. Corrigan, C. C. Su, W. I. Higuchi and A. F. Hofmann, Mesophase formation during cholesterol dissolution in ursodeoxycholate-lecithin solutions: New mechanism for gallstone dissolution in humans, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 869 (1980).
- 16) H. Igimi and M. C. Carey, Cholesterol gallstone dissolution in bile: Dissolution kinetics of crystalline(anhydrate and monohydrate)cholesterol with chenodeoxy cholate, ursodeoxycholate and their glycine and taurine conjugates, *J. Lipid. Res.*, **22**, 254 (1981).
- 17) G. Salvioli, H. Igimi and M. C. Carey, Cholesterol gallston dissolution in bile. Dissolution kinetics of crystalline cholesterol monohydrate by conjugated chenodeoxycholate-lecithin and ursodeoxycholate-lecithin mixtures: Dissimilar phase equilibria and dissolution mechanisms, *J. Lipid Res.*, **24**, 701 (1983).
- 18) T. Fedorowski, G. Salen, A. Colalillo, G. S. Tint and J. C. Hall, Metabolism of ursodeoxycholic acid in man, *Gastroenterology*, **73**, 1131 (1977).
- 19) K. Miyajima, M. Yokoi, H. Komatsu and M. Nakagaki, Interaction of β -cyclodextrin with bile salts in aqueous solutions, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1395 (1986).
- 20) K. Miyajima, K. Nakanishi, M. Masada and T. Na-

- dal. Effect of the interaction of drug- β -cyclodextrin complex with bile salts on the drug absorption from rat small intestinal lumen. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 211 (1989).
- 21) H. W. Frijlink, A. J. M. Schoonen and C. F. Lerk. The effects of cyclodextrins on drug absorption I: *In vitro* observations. *Int. J. Pharm.*, **49**, 91 (1989).
- 22) X. Tan and S. Lindenbaum. Studies on complexation between β -cyclodextrin and bile salts. *Int. J. Pharm.*, **74**, 127 (1991).
- 23) Seung yong Lee, Youn Bok Chung, Kun Han and Song Am Choi, Inclusion complexation of bile acids with β -cyclodextrin. *Yakhak Hoeji*, **38**, 78 (1994).
- 24) T. Higuchi and K. A. Connors, Phase-solubility techniques. *Adv. Anal. Chem. Instrum.*, **4**, 117 (1965).
- 25) M. Kurozumi, N. Nambu and T. Nagai, Inclusion complex of nonsteroidal anti-inflammatory and other slightly water soluble drugs with α - and β -cyclodextrins in powdered form *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 3062 (1975).
- 26) S. Y. Lin and J. C. Yang, Inclusion complexation of warfarin with cyclodextrins to improve some pharmaceutical characteristics. *Pharm. Weekbl. Sci.*, **8**, 223 (1986).
- 27) N. Rajagopalan, S. C. Chem and W. S. Chow, Study of the inclusion complex of amphotericin- β with γ -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, **29**, 161 (1986).
- 28) M. T. Lengyel and J. Szejtli, Menadion- γ -cyclodextrin inclusion complex. *J. Incl. Phenom.*, **3**, 1 (1985).
- 29) Y. Shoyama, S. Morimoto, I. Nishioka, *J. Nat. Prod.*, **46**, 633 (1984).
- 30) K. Uekama, F. Hirayama, A. Fujise, M. Otagiri, K. Inaba and H. Saito, Inclusion complex of prostaglandin $F_{2\alpha}$ with γ -cyclodextrin in solution and solid phase. *J. Pharm. Sci.*, **73**, 382 (1984).
- 31) Shan-Yang Lin and Yuh-Horng Kao, Solid particulates of drug-inclusion complexes directly prepared by a spray-drying technique, *Int. J. Pharm.*, **56**, 249 (1989).
- 32) W. Saenger, Cyclodextrin inclusion compounds in research and industry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **19**, 344 (1980).
- 33) K. Uekama, M. Otagiri, *CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **3**, 1 (1987).