

## 세팔렉신 함유 생체막점착성 마이크로캡셀의 생체이용을 평가

한 건<sup>1</sup> · 김정환\* · 정연복 · 지웅길\*

충북대학교 약학대학, \*충남대학교 약학대학

(1994년 8월 16일 접수)

### Evaluation of Bioavailability of Bioadhesive Microcapsules Containing Cephalexin

Kun Han<sup>1</sup>, Jung Hwan Kim\*, Youn Bok Chung and Ung Kil Jee\*

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

\*College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

(Received August 16, 1994)

Bioadhesive microcapsules of cephalexin, using Eudragit RS/RL coated with polycarbophil or carbopol, were evaluated biopharmaceutically. The GI transit of microcapsules in rats was studied. Bioadhesive microcapsules coated with polycarbophil or carbopol were shown to have substantially longer GI transit time than Eudragit RS/RL microcapsule. The delay in transit time was due to bioadhesion of the polymer to the mucin-epithelial cell surface which was clearly observable on animal autopsy. Plasma drug levels in rabbits showed that bioadhesive microcapsules resulted in a longer duration of action and greater bioavailability than other microcapsule or drug powder. Thus, the principle of bioadhesion can significantly improve therapy, due to a reduced rate of gastric emptying, an increase in contact time, and the intimacy of contact of the drug with the absorbing membrane.

**Keywords**—Cephalexin, Eudragit RS/RL, Bioadhesive microcapsules, GI Transit, Polycarbophil, Carbopol.

대다수의 조절방출제에 있어서, 환자의 복약비순응도(non-compliance)를 최소화하고 약물치료 효과를 최대화하기 위해서는 24시간의 위장관통과시간을 갖는 것이 바람직하며 특정조건에서는 3~4일의 통과시간을 갖는 것이 요구되기도 한다. 위장관의 특정부위에 약물송달 시스템을 국소화하는 것은 특정부위에서만 흡수되는 약물들중 안정성에 문제가 있는 약물들의 치료효과를 향상시키는 결과를 가져올 수 있다. 또는, 제형과 흡수부위와의 친밀한 접촉은 전체 약물흡수를 최대화 할뿐 아니라 약물 흡수속도에도 영향을 줄 수 있다. 입자밀도 조정,<sup>1)</sup> 입자크기 조정,<sup>2)</sup> 섬유물질의 사용 등 약물의 위장관통과를 지연시키는 여러가지 방법들이 보고되고

있으나, 이러한 방법들은 결과가 일정하지 않고 흡수부위와 친밀한 접촉을 제공하지 못하는 등 논쟁의 여지를 많이 갖고 있다. 약물의 위장관 통과속도를 감소시키는 한방법은 위장관 점막 혹은 소장 상피 세포에 결합하는 폴리머를 약물에 코팅 혹은 혼합하여 적용함으로써 약물을 장시간 위나 소장에 체류시키는 것이다. 이때 사용되는 생체막점착성 폴리머는 생체막과 약물의 접촉 친밀성의 향상 및 체류시간의 지속을 가져올때 유용하다.

생체막점착성을 가진 폴리머에 대한 연구는 주로 치과나 외과 영역<sup>3)</sup>에서 다루어 왔으며, 특히 monomeric  $\alpha$ -cyanoacrylate ester를 점착성 고분자소재로 이용한 예가 많이 보고되었다.<sup>4)</sup> 그외에도 합성

<sup>1</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

\* 현주소: (주) 한독약품 중앙연구소

폴리머인 polyurethanes, epoxy resins, polystyrene, acrylates 및 natural products cement와 같은 것들이 bone glues<sup>5, 6)</sup>로서 널리 이용되고 있다. 이러한 폴리머들이 위장관 점막 혹은 소장 상피세포에도 점착성을 나타낼 수 있다면, 약물의 위장관 통과시간을 지연시켜 흡수를 증대시킬 수 있는 경구용 약물송달 시스템의 소재로 이용이 가능하다 할 수 있겠다. 이와 같은 결합을 기대할 수 있는 생체막 점착성 폴리머들은 이상적으로 다음과 같은 성질<sup>7)</sup>을 가져야 한다. 즉 독성이 없고, 위장관에서 흡수되지 않고, 점막 혹은 상피세포와 강한 비공유결합을 형성하며, 또한 약물을 쉽게 부합시키고 약물의 방출을 방해하지 않으며 경제적이어야 한다. Park와 Robinson<sup>8)</sup>은 여러 폴리머들과 위장관점막 및 소장 상피세포와의 결합력을 측정된 결과 음이온의 폴리머들이 중성 혹은 양이온 폴리머보다 결합력이 우수하고, 수불용성 폴리머가 수용성 폴리머보다 제제 설계에 있어서 유리하며, 더우기 음이온 폴리머 중에서도 carboxylic acid 폴리머가 생체막점착성과 관계있는 중요한 기본구조가 된다고 보고하였다. 생체막점착성 제제는 종래의 제형과 서방성 제형에서 생체이용율에 문제를 보이는 대부분의 약물들에 대해 유용하다. 특히 생체막점착성 제제로 적용할 필요가 있는 약물특성<sup>9)</sup>은 다음과 같다. 즉 위 및 소장의 상부에서 주로 흡수되는 약물, 생물학적 반감기가 매우 짧은 약물, 위 혹은 소장에서 제한된 용해도를 나타내는 약물, 특별한 흡수기구 즉, 능동 및 포화흡수과정이 인정되는 약물 및 흡수속도정수가 작은 약물 등이다. 생체막점착성 제제의 중요한 조건<sup>10)</sup>은 약물이 제제로부터 완전히 방출될 때까지 약물이 생체막점착성 폴리머와 함께 흡수부위에 남아 있어야 한다는 것이다. 만약 이조건이 충족되지 않는다면 생체막점착성 제제의 고유목적을 잃고 약물이 폴리머보다 더 빠른 속도로 흡수부위로부터 배출될 것이다. 그러므로 서방형제제 즉 microcapsule, microsphere, matrix device, drug coated seed 또는 granule, osmotic device 등과 같은 제제에 생체막점착성을 부여하게 되면, 제제로부터의 약물방출제어기능에 덧붙여 흡수부위에의 친화성의 증대 및 체류성의 연장이 기대될 수 있다. 본 실험에 사용된 약물인 세팔렉신은 체내로부터의 소실속도가 비교적 빠르고 그 흡수부위는 소장상부에 국한된다

고 보고되고 있다.<sup>10)</sup> 따라서 세팔렉신 제제는 위장관 통과를 고려할때 위내에 오래 머무르면서 약물을 서서히 방출하는 것이 흡수부위가 소장상부로 국한된 세팔렉신의 생체이용율을 극대화 할 수 있을 것으로 생각된다. 저자 등<sup>11, 12)</sup>은 Eudragit RS/RL로 마이크로캡슐화함으로써 세팔렉신의 투여횟수를 1일 2회로 할 수 있는 지속성제제를 제조하여 그 평가결과를 보고한바 있다. 본 연구에서는 세팔렉신을 함유한 Eudragit RS/RL 마이크로캡슐의 표면을 생체막점착성이 우수한 polycarbophil 혹은 carbopol로 코팅하여 생체막점착성 마이크로캡슐을 제조하고 동물실험을 통하여 위장관내 이동양상<sup>13)</sup>과 혈중농도 최대치, 최대농도 발현시간, 약효지속시간 간의 상관관계를 파악하여 1일 2회 내지 1회 투여로 마이크로캡슐의 모든 장점을 살리면서 유효혈중농도를 더욱 오랫동안 지속시킬 수 있는 새로운 생체막점착성 마이크로캡슐을 개발하고자 하였다.

## 실험 방법

### 시약 및 실험동물

Eudragit RS 100, RL 100은 Rohm Pharm. Co. 제품을 (주)덕우상사로 부터 공급받았고, 세팔렉신은 (주)유한양행에서 공급받았다. Polycarbophil 및 carbopol (934P)은 Goodrich Co. (U.S. patent) 제품을 구입하여 사용하였다. 세프라딘은 Sigma Chemical Co. (U.S.A.), 아세톤은 Junsei Chemical Co. (Tokyo, Japan), isopropyl alcohol (IPA)은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Tokyo, Japan)의 특급시약을 사용하였다. Aluminium tristearate는 Junsei Chemical Co. (Tokyo, Japan) 화학용을 사용하였으며, 유동파라핀은 Shinyo Pure Chemicals Co. (Tokyo, Japan)의 일급시약을 사용하였으며, n-hexane은 Showa Chemicals Inc. (Tokyo, Japan)의 특급시약을 사용하였고, 기타 시약은 모두 특급을 사용하였다. 실험동물로는 웅성 토끼 (1.5~2 kg) 및 웅성 랫트 (200~250 kg)를 한국동물개발원으로부터 구입하여 충북대학교 약학대학 동물사육장에서 항온항습 조건하에서 사육한 후 사용하였다. 토끼는 24시간, 랫트는 48시간 절식 후 실험에 사용하였으며 물은 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다.

### 실험기기

기기로는 HPLC (Hitachi, Ltd., Model L-6200), 자외선분광광도계 (Cecil Instruments Ltd.), 용출 시험기 (Prolabo N 63776 Type A), 수소이온측정기 (DMS DP-880), 진공건조기 (Gallen-kamp, U.K.) 및 vortex-mixer (Model HM-77VM) 등을 사용하였다.

#### 마이크로캡셀의 제조

Eudragit RS, RL 100를 이용하여 세팔렉신을 함유한 마이크로캡셀을 Kawata 등의 방법<sup>13)</sup>을 응용하여 제조하였다. 제조조건은 전보<sup>11, 12)</sup>와 같다. 제조된 마이크로캡셀 (425-850  $\mu\text{m}$ )을 Junginger<sup>14)</sup> 등의 air-suspension 법을 응용하여 polycarbophil 혹은 carbopol 1% 수용액으로 코팅한 후 감압하에서 12시간 건조하여 생체막점착성 마이크로캡셀을 제조하였다.

#### 입도분포 측정

Eudragit 마이크로캡셀의 입도분포는 표준체 (2000  $\mu\text{m}$ , 1000  $\mu\text{m}$ , 850  $\mu\text{m}$ , 425  $\mu\text{m}$ , 250  $\mu\text{m}$ , 125  $\mu\text{m}$ )를 사용하여 측정하였다. 일정량의 시료를 상단체에 넣은 후, 진탕기로 5분간 진탕한 후 각 표준체위의 잔존량을 측정하여 백분율을 구하였다. Polycarbophil 혹은 carbopol로 코팅된 생체막점착성 마이크로캡셀도 같은 방법으로 측정하였다.

#### 약물 함량시험

약물 함량시험의 표준액을 조제하기 위해, 세팔렉신 5mg을 정밀히 칭량하여 증류수 100 ml에 용해시킨 후 이로부터 1  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ , 20  $\mu\text{g/ml}$ , 30  $\mu\text{g/ml}$ , 40  $\mu\text{g/ml}$ , 50  $\mu\text{g/ml}$ 의 표준액을 조제하였다. 이 표준액을 260 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같은 검량선식을 얻었다.

$$y = 0.018515x + 0.08669 \quad (r = 0.99944)$$

Eudragit 마이크로캡셀 10 mg을 정밀히 칭량하여 acetonitrile 7 ml와 증류수 3 ml의 혼합용액에 녹인 후 1 ml를 취해 증류수를 가하여 전량을 10 ml로 한 다음 260 nm에서 흡광도를 측정하여 표준액의 검량선식에 따라 약물의 함량을 계산하였다. Polycarbophil 혹은 carbopol로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀도 같은 방법으로 측정하였다.

#### 용출시험

대한약전 제 6개정의 봉해시험법 제 2액 (pH 6.8)을 이용하여 일정 입자경 (425~850  $\mu\text{m}$ )의 마이크

로캡셀을 시료로 하여 약전수재 용출시험법중 paddle법으로 용출시험을 하였다. 즉, 회전속도 50 rpm, 용매온도  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , 용출용매는 pH 6.8 인산염 완충액 500 ml를 사용하였다. 함량시험의 결과에 준하여 세팔렉신 25 mg에 상당하는 양의 마이크로캡셀을 취하여 시험액에 넣고 용출실험을 실시하였다. 일정시간 간격 (10, 20, 30, 40, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 분)으로 5 ml의 검체를 취하고 즉시 동량의 용출용매로 보충하였다. 채취한 용액을 260 nm에서 흡광도를 측정하여 검량식에 따라 용출율을 계산하였다. Polycarbophil 혹은 carbopol로 코팅된 생체막점착성 마이크로캡셀도 같은 방법으로 측정하였다.

#### 랫트를 이용한 위장관 통과실험

Ch'ng 등<sup>7)</sup>의 방법에 따라 48 시간 절식시킨 랫트의 복부를 2 cm 정도 절개하여, 위를 복강으로부터 조심스럽게 꺼내, 직경 2~3 mm의 구멍을 내었다. 마이크로캡셀 및 코팅된 생체막점착성 마이크로캡셀을 캡셀에 충전시킨 후 구멍을 통해 위로 삽입하였다. 삽입후 구멍은 실로 묶고, 위를 복강내로 재배치한 후 젤라틴 캡셀의 용해를 위해 2 ml의 생리식염수를 위내에 주입하고 복부를 봉합하였다.

일정시간 (3, 6, 10 시간) 후 과용량의 에텔 마취로 랫트를 치사시킨 후, 위와 소장을 적출하여 소장은 20개 단위로 절편을 만들어 위와 소장 각절편에 잔존하는 마이크로캡셀 및 생체막점착성 마이크로캡셀의 수를 페트리 접시 안에서 세었다.

#### 세팔렉신 경구투여 후 혈장중 농도 측정

생체막점착성 마이크로캡셀 (200 mg/kg, 1회 투여), 마이크로캡셀 (200 mg/kg, 1회 투여) 및 세팔렉신 분말 (100 mg/kg, 6시간 간격으로 2회투여)을 경구용튜브끝에 충전시킨 후 튜브를 웅성토기의 위장관내에 삽입하여 생리식염수로 밀어 넣었다. 약물투여후에는 귀정맥으로부터 혈액을 경시적으로 채취하였다. 채혈시에는 약 500  $\mu\text{l}$ 의 혈액을 마이크로튜브에 받아서 탁상용원심분리기를 사용하여 원심분리후 혈장 200  $\mu\text{l}$ 를 취하였다. 내부표준물질로 세프라딘 (0.1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) 200 ml를 첨가한 후 메탄올 600  $\mu\text{l}$ 를 가하여 1분간 진탕시켰다. 3500 rpm에서 20분간 원심분리한 후 얻어진 상정액을 멤브레인 필터 (millipore filter, pore size : 0.45  $\mu\text{m}$ )로 여과한 다음 여액 20  $\mu\text{l}$ 를 HPLC에 주입하여 혈장중 세팔렉신

농도를 측정하였다. 멤브레인 필터로 여과하기 전 및 후의 용액중 세팔렉신 및 세프라딘의 HPLC 면적은 유의한 차를 나타내지 않은 점으로부터 필터에 의한 흡착은 무시할 수 있었다.

HPLC의 컬럼은 Lichrosorb RP-18 (10 μM, 4 × 250 mm)를 사용하였다. 이동상 용매는 메탄올 (167 ml), 물 (833 ml) 및 초산 (1 ml)를 혼합하여 사용하였다. UV-검출 파장은 254 nm, 유속은 1.0 ml/min으로 하였다.<sup>15)</sup> 내부표준물질인 세프라딘의 피크발현시간은 11분대에 나타났고 세팔렉신의 피크발현시간은 7분대로 잘 분리되었다.

**AUC에 의한 평가**

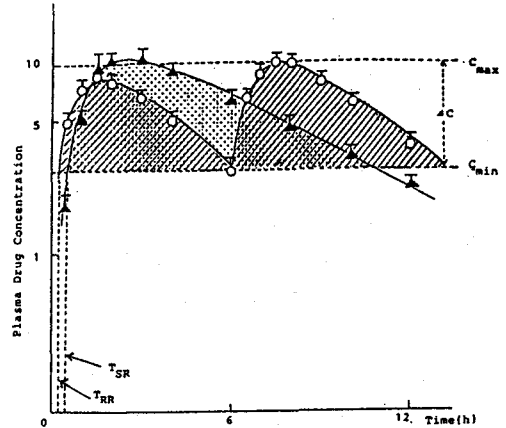
세팔렉신 분말, Eudragit 마이크로캡셀 및 생체막점착성 마이크로캡셀을 토끼에 경구투여 후 얻어진 혈장중 농도 데이터로부터 혈장중농도 곡선하면적 (AUC)을 사다리꼴공식을 사용하여 구하였다. 얻어진 각 제제의 AUC로부터 다음 식과 같이 양적 생체이용율의 지표가 되는 상대적 생체이용율 (relative bioavailability : RBA)을 산출하였다.

$$RBA = \frac{AUC_{sr}}{AUC_{powder}} \tag{1}$$

여기서, AUC<sub>sr</sub>은 마이크로캡셀 및 생체막점착성 마이크로캡셀을 경구투여한 후의 AUC를, AUC<sub>powder</sub>는 세팔렉신 분말을 경구투여한 후의 AUC를 각각 나타낸다.

**Vallner 등의 방법<sup>16)</sup>에 의한 평가**

표준제제 분말을 6시간 간격으로 2회투여 및 마이크로캡셀 및 생체막점착성 마이크로캡셀제제를 1회투여후의 생체이용률을 비교 평가하기 위해 다음과 같은 2개의 파라미터를 측정하였다. 즉 유효 혈장약물농도를 유지하는 시간에서의 혈장약물농도곡선하면적 및 유효혈장약물농도에 도달하는데 걸리는 속도를 Vallner 등의 방법 (Fig. 1)<sup>16)</sup>에 준하여 평가하였다. 단, 유효혈장약물농도란 표준제제를 실제의 투여방법으로 투여할 경우 제 2회 투여직전에 관측되는 혈장약물농도를 C<sub>min</sub>, 제 2회 투여후에 얻어진 최고혈장약물농도를 C<sub>max</sub>라 하였을때 그 차이 (C<sub>max</sub> - C<sub>min</sub> = ΔC)의 약물농도범위를 나타낸다. 따라서 걸보기 흡수속도 (R<sub>aa</sub>)를 다음식으로부터 산출하였다.



**Figure 1**—Illustration of parameters in Vallner's method. Key: ▨, AUC<sub>RR</sub>; ▩, AUC<sub>SR</sub>. See the text for explanation of T<sub>SR</sub> and T<sub>RR</sub>.

$$R_{aa} = C_{min}/T \tag{2}$$

여기서, T는 C<sub>min</sub>까지 도달하는데 걸리는 시간으로, 표준제제 분말에 있어서는 T<sub>RR</sub>, 마이크로캡셀 및 생체막 점막성제제에 있어서는 T<sub>SR</sub>로 각각 나타낸다. 또한 R<sub>aa</sub>의 비율, 즉 서방성제제 평가시 중요한 파라미터로 1.0의 값이 기대되는 흡수속도효율 (absorption rate effectiveness, ARE)은 C<sub>min</sub>에 도달하는 속도의 지표가 되는 파라미터로서 다음 식으로부터 산출하였다.

$$ARE = \frac{C_{min}/T_{SR}}{C_{min}/T_{RR}} = \frac{T_{RR}}{T_{SR}} \tag{3}$$

한편, 치료가 기대되는 유효혈장중 약물농도의 범위 (ΔC) 내에서의 혈장중 약물농도곡선하면적 (AUC<sub>R</sub>)을 사다리꼴공식으로 계산하여 다음 식에 나타난 제어방출효율 (controlled release effectiveness, CRE)을 산출하였다.

$$CRE = \frac{AUC_{SR}}{AUC_{RR}} \tag{4}$$

여기서, AUC<sub>sr</sub>은 마이크로캡셀 및 생체막점착성 제제를 경구투여한 후 얻어진 AUC<sub>R</sub>을, AUC<sub>RR</sub>은 표준제제 분말을 경구투여한 후 얻어진 AUC<sub>R</sub>을 각각 나타낸다.

**결과 및 고찰**

**입도분포**

세팔렉신 함유 Eudragit RS/RL (75/25) 마이크로캡셀의 입도분포 실험 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 제조된 마이크로캡셀은 거의 균일한 자유유동성의 입자집합체였으며 250~850 μm의 입자경을 갖는 마이크로캡셀이 전체제의 90% 이상을 차지하였다. 위장관통과 실험에서는 425~850 μm의 마이크로캡셀을 polycarbophil 혹은 carbopol로 코팅하여 생체막점착성 마이크로캡셀을 제조하였으며, 입도실험 결과 코팅전과 별 차이가 없었다. 이는 코팅에 의한 입자경의 변화가 마이크로캡셀의 입자경에 비해 거의 무시할 정도로 미미하기 때문인 것으로 보인다.

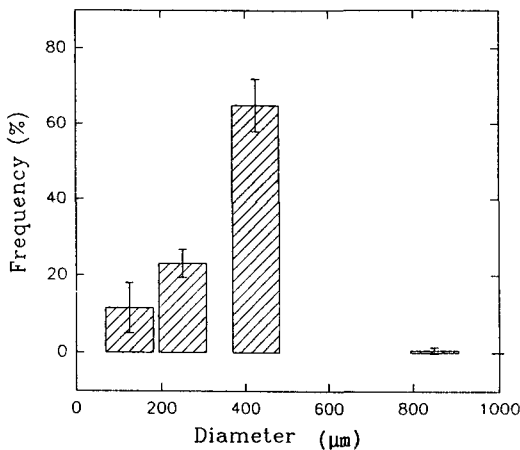
**용출 실험**

세팔렉신 함유 Eudragit RS/RL 마이크로캡셀 및 carbopol 혹은 polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀의 용출실험 결과를 Fig. 3에 나타내었다. Polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀의 경우에는 Eudragit RS/RL 마이크로캡셀과 carbopol로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀의 중간 정도의 방출 패턴을 보였다. 제제로부터 60%의 약물방출을 보이는 시간을 비교해보면 Eudragit RS/RL 마이크로캡셀의 경우 2.6시간, carbopol로 코팅한 경우 3.5 시간, polycarbophil로 코

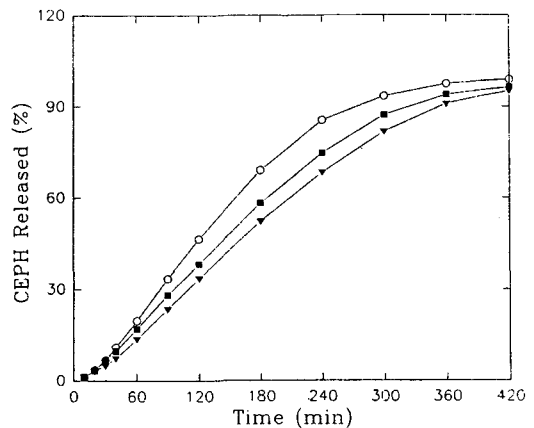
팅한 경우에는 3.0 시간 정도로 나타나 Eudragit RS/RL 마이크로캡셀을 carbopol 혹은 polycarbophil 순으로 약간 지연되는 경향을 보였으나 코팅전의 마이크로캡셀의 방출과 현저한 차이는 보이지 않았다. 이와 같은 결과로부터 polycarbophil과 carbopol은 서방성제제에 생체막점착성을 부여하기 위한 유용한 코팅물질로서 이용할 수 있다는 것이 시사되었다.

**렛트의 위장관통과실험 평가**

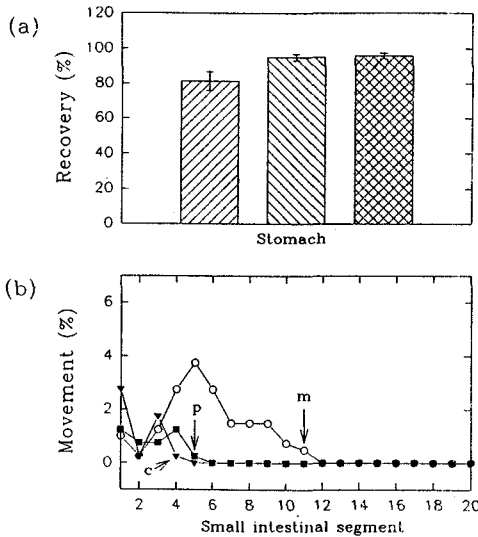
제조된 직경 425~850 μm 마이크로캡셀과 같은 크기의 carbopol 혹은 polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀을 Ch'ng 등의 방법<sup>7)</sup>에 준하여 각 제제의 위 및 소장에서의 생체막점착성력 실험을 실시하였다. 일정 시간후 위내용배출에 의한 마이크로캡셀 및 생체막점착성 마이크로캡셀의 위 및 소장에서의 분포를 Fig. 4-6에 나타내었다. 3 시간 후 위내용배출에 의한 위 및 소장에서의 마이크로캡셀 및 생체막점착성 마이크로캡셀의 분포를 보면, 마이크로캡셀의 경우, 소장으로 배출되지 않고 위내에 존재한 것은 81.5%, carbopol로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀은 95.0%, polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀은 95.8%였다. 소장에서의 이동은 마이크로캡셀의 경우 소장절편 11 단위, carbopol 코팅은 4 단위, polycarbophil 코팅



**Figure 2**—Frequency distribution for Eudragit RS/RL microcapsules containing cephalixin. Each value indicates the mean S.D. of four different experiments.



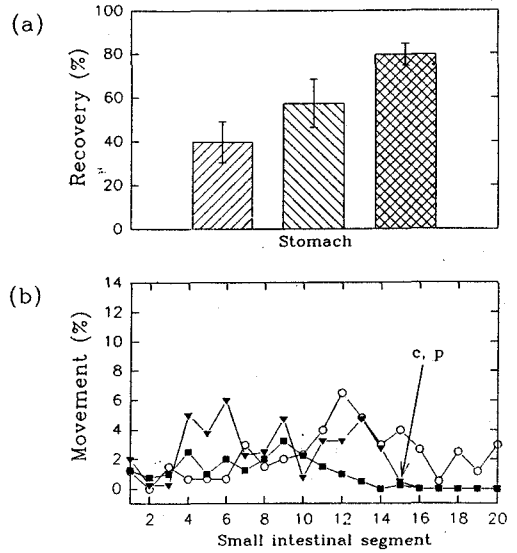
**Figure 3**—Dissolution (%) curves of cephalixin (CEPH) from Eudragit RS/RL(75/25) microcapsules coated with carbopol or polycarbophil at 37 oC, pH 6.8 and 50 rpm. Key : ○, Eudragit RS/RL(75/25) microcapsules; ▼, bioadhesive microcapsules coated with carbopol; ■, bioadhesive microcapsules coated with polycarbophil.



**Figure 4**—Distribution of microcapsules and bioadhesive microcapsules in the rat. (a) Recovery (%) of microcapsules and bioadhesive microcapsules in the rat stomach after 3 hr. Each point represents the mean of four rats and the vertical line indicates the standard deviation. (b) Movement of microcapsules and bioadhesive microcapsules in the rat intestine after 3 hr. Arrows mean the end of distribution (m=microcapsules, c=coated with carbopol, p=coated with polycarbophil).

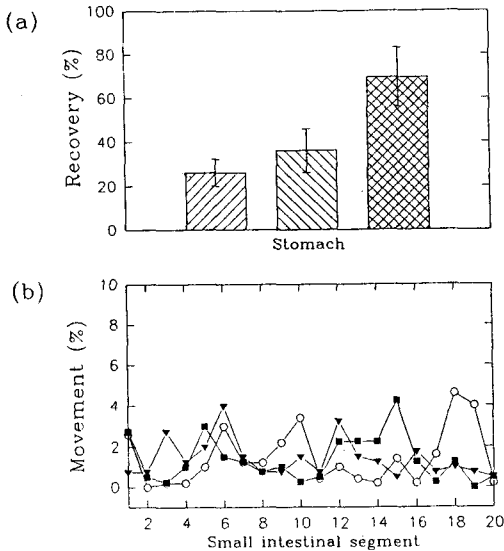
Key : ◐·○, Eudragit RS/RL microcapsules; ◑·▼, bioadhesive microcapsules coated with carbopol; ◒·■, bioadhesive microcapsules coated with polycarbophil

은 5 단위까지 이동하였다. 제제의 투여 3 시간후에서는 carbopol 혹은 polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀이 비슷한 분포양상으로 코팅전의 마이크로캡셀보다 위내용배출이 지연되었음을 볼수 있었다 (Fig. 4). 제제 투여 6시간 후에는 마이크로캡셀의 경우 40%, carbopol 코팅의 경우 57%, polycarbophil 코팅의 경우 80%가 위내에서 잔존하고 있었으며, 소장으로의 이동은 각각 20단위 이상, 15단위 이내, 15단위 이내였다. 소장에서 발견된 마이크로캡셀의 총합은 45.7%로 위내 잔존 마이크로캡셀과 합해도 86% 이하로 이미 14% 이상의 마이크로캡셀이 소장범위 밖으로 배출되었음을 알 수 있었다. 소장에서의 이동거리는 carbopol 혹은 polycarbophil 코팅제제 모두 소장절편 15단위까지로 동일하였으나, Fig. 5에서 볼수 있듯이 polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀이 위



**Figure 5**—Distribution of microcapsules and bioadhesive microcapsules in the rat. (a) Recovery (%) of microcapsules and bioadhesive microcapsules in the rat stomach after 6 hr. Each point represents the mean of four rats and the vertical line indicates the standard deviation. (b) Movement of microcapsules and bioadhesive microcapsules in the rat intestine after 6 hr. Arrows mean the end of distribution (c=coated with carbopol, p=coated with polycarbophil)

내용배출이 더 지연되어 소장으로 배출된 양이 carbopol에 비해 더 적은 것을 알 수 있었다. Carbopol로 코팅한 경우 투여 6시간 후의 결과는 투여 3시간 후의 결과와는 달리 carbopol의 생체막점착력이 저하되어 polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀 (80%)과 코팅 전의 마이크로캡셀 (40%)의 중간 정도의 위내 존재율을 보여 주었다 (Fig. 5). 제제 투여 10시간 후 위내존재율은 마이크로캡셀의 경우에는 26%, carbopol 코팅의 경우 36%, polycarbophil로 코팅한 경우에는 70%가 위내에 머물러 있었으며, 소장에서의 이동양상은 모두 소장 범위 밖으로까지 배출이 일어났음을 볼 수 있었다(Fig. 6). Fig. 6에서 알수 있듯이 제제 투여 10시간 후에는 carbopol로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀의 위내용배출 지연효과를 기대할 수 없었으나 polycarbophil의 경우에는 투여 10시간 후에도 제제의 위내용배출 지연효과가 상당히 커서 코팅 전의 마이크로캡셀 및 carbopol 코팅 제제와 비교할 때 위내존재율의 뚜렷한 차이를 볼 수 있었다.



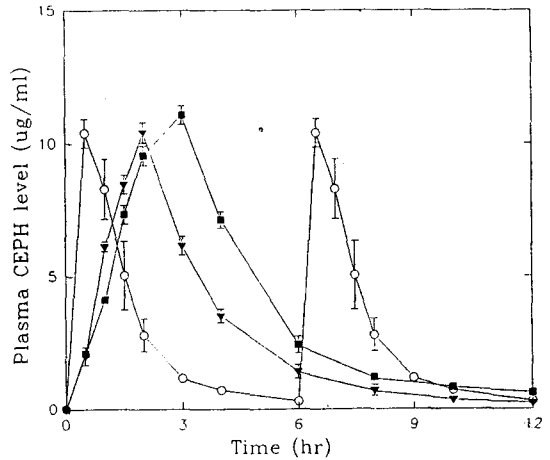
**Figure 6**—Distribution of microcapsules and bioadhesive microcapsules in the rat. (a) Recovery (%) of microcapsules and bioadhesive microcapsules in the rat stomach after 10 hr. Each point represents the mean of four rats and the vertical line indicates the standard deviation. (b) Movement of microcapsules and bioadhesive microcapsules in the rat intestine after 10 hr.

Key : ▨·○; Eudragit RS/RL microcapsules, ▩·▼; bioadhesive microcapsules coated with carbopol, ▤·■; bioadhesive microcapsules coated with polycarbophil

이상의 결과로부터 carbopol, polycarbophil 모두 생체막에 대한 점착력이 우수하다는 것을 알 수 있었고, carbopol 보다 polycarbophil이 더욱 오랫동안 더 강한 생체막점착력을 갖고 있어 polycarbophil은 마이크로캡셀 및 다른 서방성제형의 생체막점착성 제제 제조에 유용한 고분자로 평가되었다.

**토끼에 세팔렉신 경구투여후 AUC 평가**

세팔렉신을 함유한 Eudragit RS/RL 마이크로캡셀 (200 mg/kg) 및 이를 carbopol 혹은 polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀 (200 mg/kg)을 1회 경구투여 및 세팔렉신 분말 (100 mg/kg)을 6시간 간격으로 2회 경구투여한 후의 혈장 중 약물농도 곡선을 Fig. 7 및 8에 나타냈다. 마이크로캡셀 투여 후의 최대혈장농도의 출현시간은 분말 투여 후의 결과에 비해 현저하게 지연되었고, 혈장 농도는 투여 10시간 이후부터는 유효혈중약물농도의  $C_{min}$  이하로 떨어져 완전한 1일 2회 용법을 충



**Figure 7**—Plasma cephalexin (CEPH) level after single oral administration of bioadhesive microcapsules coated with 1% carbopol in the rabbit. Each point represents the mean of four rabbits and the vertical line indicates the standard deviation.

Key : ○; double doses of cephalexin powder (100 mg/kg), ▼; Eudragit RS/RL microcapsules (200 mg/kg), ■; bioadhesive microcapsules coated with 1% carbopol (200 mg/kg)

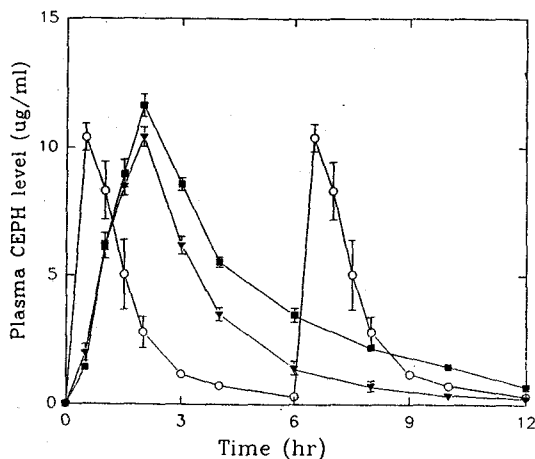
족시키지 못했다. 그러나, carbopol 혹은 polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀의 경우에는 투여후 12시간 이후까지도  $C_{min}$  이상의 높은 혈장농도를 보여주었다. Carbopol 코팅의 경우 최대혈장농도 ( $C_{max}$ )의 출현시간이 1시간 정도 늦어졌으나  $C_{max}$ 의 증가뿐만 아니라 투여후 6시간까지는 마이크로캡셀에 비해 상당히 높은 혈장중농도를 보여주었고, 6시간 이후에도 마이크로캡셀에 비해 높은 혈중농도를 보여주었다 (Fig. 7). Polycarbophil 코팅의 경우,  $C_{max}$ 의 증가뿐만 아니라  $C_{max}$ 의 출현시간도 마이크로캡셀과 비슷하고 전체적으로 위내용 배출의 지연으로 기인한 혈장중농도의 상승을 보여주어 생체막점착성 제제의 이상적인 혈장농도 패턴을 보여주었다 (Fig. 8).

세팔렉신 분말 및 각 제제를 경구투여한 후 얻어진 혈장중농도-시간곡선으로부터 혈장중농도곡선하면적 (AUC)을 산출한 결과를 Table I에 나타내었다. Eudragit RS/RL 마이크로캡셀의  $C_{max}$  및 AUC는 powder와 비슷한 값을 보여주었다. Carbopol 혹은 Polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀의 경우에는 마이크로캡셀에 비해 AUC가 각각

**Table I**—Biopharmaceutical Evaluation for Eudragit Microcapsules and Bioadhesive Microcapsules Containing Cephalexin(CEPH) based on AUC Comparison in the Rabbit

| Dosage form   | AUC <sub>0-12</sub><br>(hr · µg/ml) | AUC <sup>a)</sup><br>AUC <sup>b)</sup> | AUC <sup>c)</sup><br>AUC <sup>m)</sup> | C <sup>d)</sup> <sub>max</sub><br>C <sup>e)</sup> <sub>max</sub> |
|---|-------------------------------------|--|--|--|
| Powder<br>(CEPH)                                      | 33.1<br>± 3.08                      | —                                      | —                                      | —  |
| Microcapsule<br>(Eudragit RS/RL)                      | 32.8<br>± 1.45                      | 0.99<br>± 0.048                        | —                                      | —  |
| Bioadhesive microcapsule<br>coated with carbopol      | 44.9<br>± 0.66                      | 1.35<br>± 0.02                         | 1.37<br>± 0.02                         | 1.087<br>± 0.0336  |
| Bioadhesive microcapsule<br>coated with polycarbophil | 48.8<br>± 1.84                      | 1.473<br>± 0.056                       | 1.49<br>± 0.056                        | 1.115<br>± 0.0414  |

a) AUC<sup>a</sup> means the area under the curve obtained by administration of microcapsules or bioadhesive microcapsules containing cephalaxin during 0-12 hr. b) AUC<sup>b</sup> means the area under the curve obtained by double dose of CEPH powder during 0-12 hr. c) AUC<sup>c</sup> means the area under the curve obtained by administration of bioadhesive microcapsules containing cephalaxin during 0-12 hr. d) AUC<sup>m</sup> means the area under the curve obtained by administration of microcapsules containing cephalaxin during 0-12 hr. e) C<sup>d</sup><sub>max</sub> means the maximum plasma concentration obtained by administration of bioadhesive microcapsules containing cephalaxin. f) C<sup>e</sup><sub>max</sub> means the maximum plasma concentration obtained by administration of microcapsules containing cephalaxin. Each value indicates the mean ± S.D. of four different experiments.



**Figure 8**—Plasma cephalaxin (CEPH) level after single oral administration of bioadhesive microcapsules coated with 1% polycarbophil in the rabbit. Each point represents the mean of four rabbits and the vertical line indicates the standard deviation.

Key : ○; double doses of cephalaxin powder (100 mg/kg), ▼; Eudragit RS/RL microcapsules (200 mg/kg), ■; bioadhesive microcapsules coated with 1% carbopol (200 mg/kg)

1.37배 및 1.5배 증가되었다. 두 제제의 경우 AUC의 증가는 제제의 위 및 소장에서의 생체막점착성으로

인하여 제제에 함유된 약물의 완전한 흡수가 이루어졌기 때문인 것으로 생각된다.

#### 토끼에 있어서 Vallner 등의 방법<sup>16)</sup>에 의한 서방성 평가

서방성제제가 널리 보급됨에 따라서 서로 다른 제제간의 생체이용율을 평가하는 방법으로서 다음과 같은 2개의 파라메타를 검토하는 것이 제안되고 있다. 즉 유효혈장약물농도를 유지하는 시간내에서의 혈장약물농도곡선하면적(제어방출효율, CRE) 및 유효혈장약물농도에 도달하는데 걸리는 속도(흡수속도효율, ARE)의 측정이 요구되고 있다. 여기서 CRE는 powder 투여후의 C<sub>min</sub>과 C<sub>max</sub>사이의 농도범위내에서의 혈장약물농도곡선하면적을 의미하는 것으로서, 전항에서 기술한 AUC에 비해 양적 생체이용율의 보다 유용한 지표라고 볼 수 있다. 또한 AUC 및 CRE에 의한 양적 생체이용율의 평가에 그치지 않고 본 실험에서는 흡수속도효율(ARE)에 의해서도 평가하였다. ARE는 1.0의 값이 이상적으로 알려져 있다. 따라서 본 실험에서는 세팔렉신 분말을 6시간 간격으로 2회 투여 및 마이크로캡셀과 생체막점착성 마이크로캡셀을 1회 투여한 후의 혈장중 약물농도로부터 식 (3), (4)에 따라 CRE 및 ARE를 산출하였다 (Table II).



**Table II**—Parameters Calculated based on Vallner's Method in the Rabbit

| Dosage form  | ARE                        | CRE                        | R <sub>∞</sub>     |
|--|----------------------------|----------------------------|--------------------|
| Powder<br>(CEPH)   |                            |                            | 20.791<br>± 1.0586 |
| Microcapsule<br>(Eudragit RS/RL)                         | 0.193<br>± 0.0319          | 0.989<br>± 0.0437          | 4.008<br>± 0.6637  |
| Bioadhesive<br>microcapsule<br>coated with carbopol      | 0.182 (0.943)*<br>± 0.0151 | 1.305 (1.32)*<br>± 0.02    | 3.775<br>± 0.3141  |
| Bioadhesive<br>microcapsule<br>coated with polycarbophil | 0.138 (0.715)*<br>± 0.0048 | 1.472 (1.488)*<br>± 0.0554 | 2.859<br>± 0.0991  |

\* Means parameters compared the results obtained by administration of microcapsule and bioadhesive microcapsules. Each value indicates the mean ± S.D. of four different experiments.

Eudragit RS/RL 마이크로캡셀의 ARE는 0.193으로 나타났고, CRE의 값은 0.989로 분말투여 후와 비슷한 값을 나타냈다. Table II에 마이크로캡셀 및 생체막점착성 마이크로캡셀의 분말에 대한 ARE 및 CRE값을 나타냈으나 본 실험에서는 마이크로캡셀에 대한 생체막점착성 마이크로캡셀의 비교에 중점을 두어 Table II의 ‘\*’ 표시부분을 보면 carbopol 코팅의 경우 ARE값이 0.943으로 마이크로캡셀에 비해 약간 떨어졌고, CRE의 값은 1.32로 마이크로캡셀에 비해 30% 정도의 향상을 가져왔다. Polycarbophil 코팅의 경우 마이크로캡셀에 비해 ARE값이 0.715로 흡수속도가 감소했으나 전체적인 흡수량상은 마이크로캡셀보다 양호한 것으로 나타났다. CRE 값은 마이크로캡셀에 비해 50% 가량 증가되어 마이크로캡셀 뿐만아니라 carbopol로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀보다도 제제의 방출제어가 훨씬 양호한 것으로 나타났다.

이상의 결과로부터 carbopol 혹은 polycarbophil의 코팅으로 ARE 값이 약간 떨어진 것이 문제이나 CRE 값의 상당한 증가를 볼때 흡수속도를 증가시키는 문제만 해결한다면 마이크로캡셀보다 훨씬 이상적인 서방성제형으로 평가된다.

**결 론**

이상의 실험결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 랫트의 위장관통과 실험결과 polycarbophil 혹은 carbopol로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀 모두가 Eudragit RS/RL 마이크로캡셀보다 위 및 소장상부에 다량 존재하는 것으로 보아 polymer의 생체막점착성에 의해 제제의 위내용배출이 억제되었음을 알 수 있었다.

2. 토끼에 있어서 polycarbophil 혹은 carbopol로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀의 AUC는 Eudragit RS/RL 마이크로캡셀의 결과에 비해 현저히 증가되었다. Polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀은 carbopol로 코팅한 제제에 비해 C<sub>max</sub>의 증가뿐만아니라 전체적인 약물흡수의 증가와 높은 혈장농도의 지속을 보여주어 생체막점착성 제제의 이상적인 약물흡수패턴을 보여주었다.

3. 흡수속도효율 (ARE) 면에서 생체막점착성 마이크로캡셀이 코팅전의 마이크로캡셀에 비해 약간 떨어졌으나, polycarbophil 코팅제제의 경우 전체적인 흡수량상이 마이크로캡셀에 비해 우수하고 또한 제어방출효율 (CRE)이 현저하게 증가되어 생체막점착성 제제로서의 유용성을 확인할수 있었다.

랫트의 위내용배출 지연효과, 토끼에 있어서 AUC, CRE 등을 종합해 볼때, polycarbophil로 코팅한 생체막점착성 마이크로캡셀은 투여횟수의 감소 및 생체이용율을 향상시키는 유용한 제제로 평가되었다.

**감사의 말씀**

본 연구는 1993년 보사부 신약개발 연구지원에 의하여 수행되었으며 이에 깊이 감사드린다. 또한 Eudragit를 공급해준 (주)덕우상사 및 세팔렉신을 공급해 준 (주)유한양행에 감사드린다.

**문 헌**

1) H. Bechgaard and K. Ladefoged, Distribution of pellets in the gastrointestinal tract. The influence on transit time exerted by the density or diameter of pellets, *J. Pharm. Pharmacol.*, **30**, 690-692 (1978).

- 2) J.W. Sieg and J.W. Triplett, Percorneal retention of topically instilled micronized particles, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 863-864 (1980).
- 3) D.R. Beech, Molecular weight distribution of denture base acrylic, *J. Dent. Res.*, **3**(1), 19-24 (1975).
- 4) W.R. Vezin and A.T. Florence, In vitro heterogeneous degradation of poly (n-alkyl alpha-cyanoacrylates), *J. Biomed. Mater. Res.*, **14**, 93-106 (1980).
- 5) G. Meyer, D. Muster, D. Schmitt, P. Jung and J.H. Jaeger, Bone bonding through bioadhesive : Present status, *Biomater. Med. Dev. Art. Org.*, **7**(1), 55-71 (1979).
- 6) J.B. Park : Acrylic bone cement, In vitro and in vivo property-structure relationship : A selective review, *Ann. Biomed. Eng.*, **2**, 297-312 (1983).
- 7) H.S. Ch'ng, H. Park, P. Kelly and J.R. Robinson, Bioadhesive polymers as platforms for oral controlled drug delivery #: Synthesis and evaluation of some swelling, water-insoluble bioadhesive polymers, *J. Pharm. Sci.*, **74**, 399-405 (1985).
- 8) K. Park and J.R. Robinson, Bioadhesive polymers as platforms for oral-controlled drug delivery : Method to study bioadhesion, *Int. J. Pharm.*, **19**, 107-127 (1984).
- 9) M.A. Longer, H.S. Ch'ng and J.R. Robinson, Bioadhesive polymers as platforms for oral controlled drug delivery III : Oral delivery of chlorothiazide using a bioadhesive polymer, *J. Pharm. Sci.*, **74**, 406-411 (1985).
- 10) A. Tsuji, E. Miyamoto, I. Kagami, H. Sakaguchi and Y. Tsukinawa, GI absorption of beta-lactam antibiotics 1 : Kinetic assessment of competing absorption and degradation in GI tract, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 1701-1704 (1978).
- 11) K. Han, D.S. Shin, U.K. Jee and Y.B. Chung, Preparation and evaluation of sustained-release Eudragit microcapsules containing  $\beta$ -lactam antibiotics, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **22**(4), 267-279 (1992).
- 12) K. Han, K.D. Kim, Y.B. Chung, U.K. Jee and S.K. Kim, Biopharmaceutical evaluation of sustained-release Eudragit microcapsules containing cephalixin, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **23**(2), 103-110 (1993).
- 13) M. Kawata, M. Nakamura, S. Goto and T. Aoyama, Preparation and dissolution pattern of Eudragit RS microcapsules containing ketoprofen, *J. Chem. Pharm. Bull.*, **34**(6), 2518-2623 (1986).
- 14) H.E. Junginger, Bioadhesive polymer systems for peptide delivery, *Acta Pharm. Techn.*, **36**, 110-126 (1990).
- 15) T. Nakagawa, J. Haginaka, K. Yamaoka and T. Uno, High speed liquid chromatographic determination of cephalixin in human plasma and urine, *J. antibiotic.*, **31**, 769-775 (1978).
- 16) J.J. Vallner, I.L. Honigberg, J.A. Kotzan and J. T. Stewart, A proposed general protocol for testing bioequivalence of controlled-release drug products, *Int. J. Pharm.*, **16**, 47 (1983).