

Chitosan을 이용한 Silymarin의 방출 제어

호병균 · 박경옥 · 강진양 · 서성훈[†]

경희대학교 약학대학

(1995년 1월 4일 접수)

Controlled Release of Silymarin from Chitosan Carrier

Byuong Kyun Ho, Kyung Ock Park, Chin Yang Kang and Seong Hoon Seo[†]

College of Pharmacy, Kyung Hee University

(Received January 4, 1995)

The experiment was designed to investigate the sustained release dosage form of silymarin (SL) from chitosan (CS) carrier. Solid dispersed system was prepared by mixing the drug with chitosan. This solid dispersed system was cross-linked by glutaraldehyde, formaldehyde, acetaldehyde and butylaldehyde, respectively. The dissolution rates of these preparations were compared with each other *in vitro*. The silymarin was mixed with anionic alginate gel and bead was prepared by dropping this mixture to cationic chitosan solution including calcium chloride. Chitosan encapsulated alginate bead after drying in the oven was investigated for the dissolution rate. The dissolution rate of SL-CS mixture was delayed with increase in the amounts of CS and the concentration of aldehyde. The effect on the delay of dissolution rate was in the increasing order of formaldehyde, glutaraldehyde, acetaldehyde, butylaldehyde. The dissolution rate of chitosan encapsulated alginate bead was parallel with the concentration of chitosan in diluted hydrochloric acid solution and delayed with increase in the concentration of chitosan in phosphate buffer solution.

Keywords—Sustained release, Silymarin, Chitosan, Solid dispersion system, Cross linking, Dissolution

최근 약물송달기구로서 폴리머가 중요하게 대두되고 있으며 타키팅화 및 서방화가 주요 쟁점이 되고 있다. 특히 약물의 복용 빈도를 줄이고 안전한 혈중농도를 유지하기 위한 서방화에 생분해성과 생체 적합성이 좋은 천연 고분자 사용이 많이 연구되고 있다. Chitosan(CS)은 셀룰로오스와 비슷한 화학구조를 갖고 절족동물의 연체동물 및 진균류등과 같이 천연에 널리 존재하는 chitin의 N-탈아세틸화물의 총칭이며 2-amino-2-deoxy-D-glucose(β -D-glucosamin)가 직쇄상으로 β -(1 \rightarrow 4) 결합한 homo다당체¹⁾이다.

CS는 분자내의 acetylamino기의 분자간 수소 결

합으로 단단한 결정 구조를 지녀 유기용매, 희산 및 희알칼리에 용해되지 않는 chitin과는 달리, 중성, 염기성 수용액 및 에탄올, 아세톤, 벤젠등의 일반 유기용매를 제외한 개미산, 유산, 아스코르빈산, 희초산, 희염산등에 용해하여 점조성의 용액이 된다. Chitin의 반응성이 낮은데 비해 CS는 다양한 분야에 응용되므로 그 역할이 크게 각광을 받기 시작하였다.

희산에 쉽게 용해하는 CS를 가교화하면 산에 불용화됨으로 비표면적이 커지고 강도, 내용매성, 열안정성이 우수한 입상 다공질성 microbeads를 얻을 수 있다. 즉, 효소 고정화 담체, 중금속 보집제, affinity chromatography 담체, 서방성 담체등으로

[†]본 논문에 대한 문의는 이 저자에게로

사용할 수 있다.²⁻³⁾ 의료용 재료로서의 응용에서 chitin은 체내에서 효소에 의해 분해되어 무해한 물질이 됨이 알려져 있고 CS는 해파린과의 구조적 유사성으로 인해 항혈전성이 기대되며, 염기성 다당으로서 위의 제산작용,^{4, 5)} 중앙억제 작용등의 효과가 있다고 보고되고 있다. 이외에 인공피부, 봉합사,⁶⁾ 인공신장막 재료,⁷⁾ 상처치료촉진제,⁸⁾ 면역부활제, 항균·항진균제,⁹⁾ 항콜레스테롤제^{10, 11)} 등의 응용성이 평가되고 있다. 방출조절로 CS를 ground mixture화 하여 약물의 빠른 용해를 유도¹²⁾하는가 하면 막을 형성시켜 막을 통과한 리소짐에 의해서 쉽게 분해되어¹³⁻¹⁷⁾ 독성을 나타내지 않으므로 좋은 방출조절용 약물 수송체로서의 역할이 기대되어진다.

생체적합성과 생분해성이 확보된 생체 고분자 물질인 CS을 약물 방출조절을 위한 도구로서 난용성 약물인 griseofulvin,^{12, 18)} ketoprofen,¹⁹⁾ theophylline,²⁰⁾ piroxicam,²¹⁾ phenytoin²²⁾의 용출율을 증가시켰고, aspirin,²³⁾ indomethacin,²⁴⁻²⁶⁾ papaverine,²⁷⁾ propranolol,²⁸⁾ diclofenac sodium,²⁹⁾ prednisolone,^{30, 31)} diltiazem HCl³²⁾ 및 ibuprofen³³⁾ 등의 서방화로 작용의 지속화를 도모하였다. 또한 Myazaki 등³⁴⁾은 CS가 pH 1.2의 산성에서 점차적으로 팽윤되고 floating되는 성질로 경구용 지속성 제제로 고안하여 혈중농도 유지에 CS 과립이 종래의 캡셀보다 우수하다는 것을 보였다. 한편 고분자 물질인 alginate는 갈조류의 세포벽에서 발견된 친수성의 colloidal anionic polysaccharide로서 물에 녹아 점조성이 되며 알코올에 녹지 않는 광범위한 응용성을 가진 물질이다. Alginate는 갈조류를 화학적 조작에 의해서 추출하여 정제한 것으로³⁵⁾ β-1,4 결합한 D-mannuronic acid와 α-1,4 결합한 L-glucuronic acid로 구성되며 각성분의 구성비율은 채취한 원료에 따라 다른 폴리머이다. Alginate는 칼슘, 마그네슘 등과의 혼합된 염의 형태로서 세포막을 형성하며, 칼슘이온의 존재하에서 투명한 겔을 형성하는데, 이러한 과정이 CD(circular dichroism)와 NMR(nuclear magnetic resonance)을 통해 연구되어졌다.³⁶⁻³⁸⁾

Sodium alginate (SA) 용액에 칼슘이온을 첨가시의 겔형성력을 이용해 약물 수송 담체로 이용할 수 있다. 물에 불용성인 약물을 SA에 분산시킨 후

tripoly phosphate나 염화칼슘에 넣어 구형의 제제로 만들 수 있고³⁹⁾ 알긴산겔은 polysaccharide의 이온특성에 의해 주위의 pH에 민감하게 팽윤한다. 건조되어 수축된 bead는 pH7.0 인산염 완충액에서 원래의 크기로 팽윤하며 증류수나 pH 1.6의 KCl-HCl 완충액에서는 팽윤이 일어나지 않는다. 이 SA는 물리적 강도가 커서 유기고분자 용액이나 aqueous latex로 제피하거나 표면을 경화시키는 등의 특수한 처리로 서방형제제로 만들 수 있다. 본 연구에서 약물로 사용된 silymarin (SL)은 silybum marianum (Carduus marianus)의 열매에서 분리된 flavonoid로서 silybin, silidianin, silicristin의 이성질체로서 silybin이 antihepa-toxic action이 가장 강하며 2-[2,3-dihydro-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-(hydroxymethyl)-1,4-benzodioxine-6-yl]-2,3-dihydro-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzo-pyran-4-one 구조식을 갖는다. 이 silymarin은 liver cell membrane peroxidation을 막아 membrane-stabilizing action을 함으로써 hepatic agents로부터 간세포막을 보호하고 간기능을 향상시키지만 물에는 녹지 않는 물질이다.

본 연구는 antihepatotoxic agent로서 장기간 복용이 불가피한 SL을 CS겔과 혼합한 고형분산체를 조제하여 포름알데히드(FA), 글루탈알데히드(GA), 아세트알데히드(AA), 부틸알데히드(BA)로 경화시킨 후 각각 알데히드의 경화도에 대한 *in vitro*에서의 방출성을 비교했다. 그리고 SL을 음이온성인 alginate겔과 혼합한 분산체를 조제하고 염화칼슘을 함유한 양이온성 CS용액에 떨어뜨려 bead를 형성시켜 CS encapsulated alginate bead를 만든 후, *in vitro*에서 묽은 염산용액과 인산염 완충액에서 방출성을 검토하여 서방성 약물 제어기체로서의 유용성 및 SL 서방형 제제에 대한 지견을 확보했기에 이를 보고하고자 한다.

실험방법

실험재료 및 기기

실험재료는 CS(Sigma Chemical Co.), SL(Hansung Pharma. Co. Ltd.), SA(Junsei Chemical Co. Ltd.)와 기타 시약은 일급 이상을, 그리고 실험 기기는 UV 흡광도측정기(Hitachi), 용출시험기(제일

과학)를 사용하였다.

실험 약물의 조제

CS와 고형분산체의 조제

CS를 분쇄, 사과한 후 SL과 CS를 1:1,1:5 중량 비로 하고 SL은 메탄올에, CS는 10% 초산에 각각 용해한 후 혼합하여 자석교반기로 2시간 교반, 혼합하였다. 이 혼합물을 60°C의 건조기에서 어느 정도 용매를 증발시킨 후 주사기에 넣어 굳힌 다음 유리판 위에 주사하고 상온에서 건조한 후 50°C에서 8시간 보관하였다.

FA, GA, AA, BA로 경화시킨 SL-CS 고형분산체의 조제

각각의 SL-CS 고형분산체를 1%, 5%, 10%의 FA, GA, AA, BA 용액으로 1시간씩 경화시킨 후 남아 있는 알데히드용액을 증류수로 충분히 세척한 후 완전히 건조시켰다.

CS encapsulated alginate bead의 제조

SL과의 SA 분산체 제조-SA를 0.85% 생리식염수에 녹여 1.5%, 2.0%, alginate 용액을 제조한 후 SA와 동량의 SL를 넣어 자석교반기로 교반하여 1.5%, 2.0% SL-SA 분산체를 제조하였다.

염화칼슘을 함유한 CS용액 제조-100, 200, 400 mg의 CS를 10% 초산용액 100 ml에 녹여 0.1, 0.2, 0.4 w/v% CS용액을 제조한 후 1.5% 염화칼슘용액 50, 100, 200 ml를 각각 가한 후 2분간 교반하였다. 염화칼슘을 함유한 CS용액에 위에서 제조한 SL-SA 분산체를 실린지를 이용하여 점적해 CS encapsulated alginate bead를 제조한 후 증류수, 아세톤순으로 세척하여 37°C에서 24시간동안 건조하였다.

용출시험

FA, GA, AA, BA로 경화시킨 SL-CS 고형분산체의 용출

대한약전 제6개정 의 일반시험법의 용출시험법(회전검체통법, 100 rpm, 용매온도 37 ± 2°C)에 준하였다. 검체는 SL 50 mg에 상당하는 양으로 하고 처음 2시간은 pH 1.2의 염산용액에서 용출시킨 후 회전검체통을 옮긴 후 pH 6.8의 인산염 완충액에서 2시간 용출시켜 288 nm에서 흡광도 측정을 하였다.

CS encapsulated alginate bead의 용출

대한약전 제6개정 의 일반시험법의 용출시험법(회전검체통법, 100 rpm, 용매온도 37 ± 2°C)에 준하였다. 검체는 SL 50 mg에 상당하는 양으로 하고

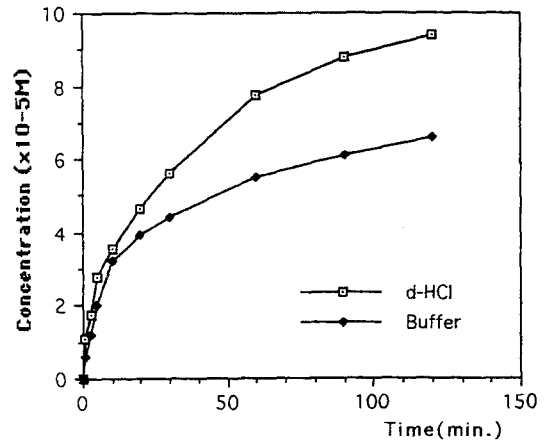


Figure 1—Dissolution profiles of silymarin in diluted hydrochloric acid(pH 1.2) and buffer solution(pH 6.8).

염산용액(pH 1.2)과 인산염 완충액(pH 6.8)에서 각각 6시간씩 용출시켜 288 nm에서 흡광도 측정을 하였다.

Bead의 약물 봉입량 측정

CS encapsulated alginate bead를 pH 1.2의 염산용액에서 6시간 용출시킨후 paddle로 30분간 분쇄한 후 5분간 sonication하였다. 이 용액의 여액을 취하여 288 nm에서 흡광도 측정하였다.

실험결과 및 고찰

CS와의 고형분산체의 용출

SL은 용해성이 뛰어나지는 않지만 *in vitro*에서 실험한 결과 인공위액에서는 2시간 동안 90% 이상이 용출되었다. 반면 인공장액에서는 2시간 동안 64% 정도가 용출되어 나왔다(Fig. 1). 본 실험에서는 SL의 CS와의 고형분산체가 이러한 용출에 어떤 영향을 미치는가를 조사하기 위하여 SL과 CS를 1:1, 1:5 중량비로 하고, SL은 메탄올에, CS는 10% 초산에 용해후 건조한 고형분산체를 인공위액에서 2시간 용출시킨 후에 계속해서 인공장액에서 2시간 용출 시험을 하였다(Fig. 2). 인공위액에 2시간 용출시 1:1의 혼합물은 단독약물에 비하여 12%정도 용출이 지연되었다. 그리고 인공장액에서는 다소 증가하여 180분에서 단독약물에 비하여 6%, 240분에서는 4%정도의 용출지연을 보이므로 다소의 용출지연은 있으나 그차이가 현저하지는 않았다. 그러나 1:5의

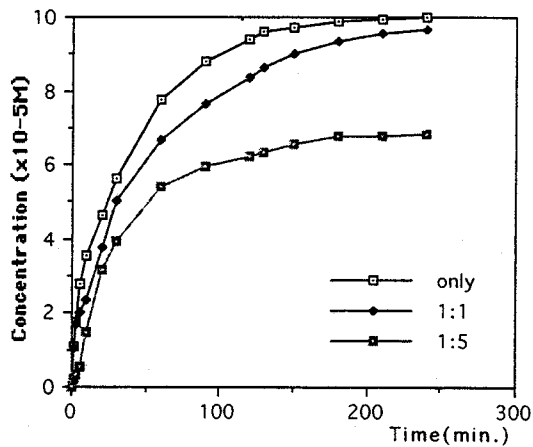


Figure 2—Dissolution profiles of silymarine from solid dispersed systems with chitosan.

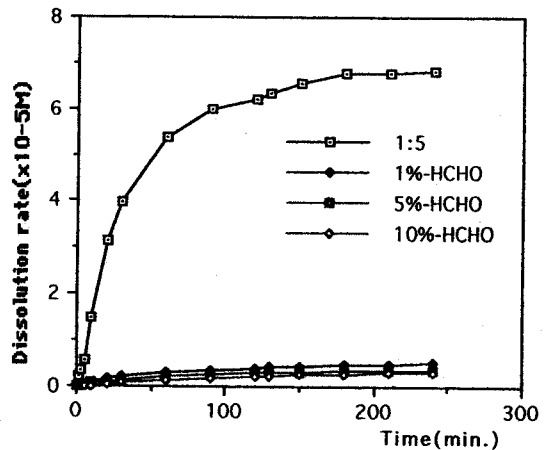


Figure 4—Dissolution profiles of silymarine from solid dispersed systems with chitosan(1:5) added formaldehyde at 37°C.

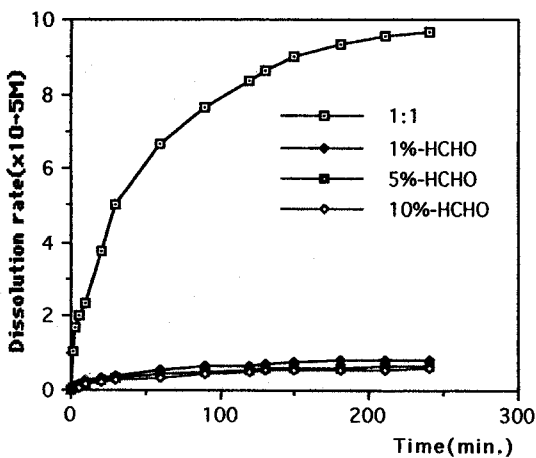


Figure 3—Dissolution profiles of silymarine from solid dispersed systems with chitosan(1:1) added formaldehyde at 37°C.

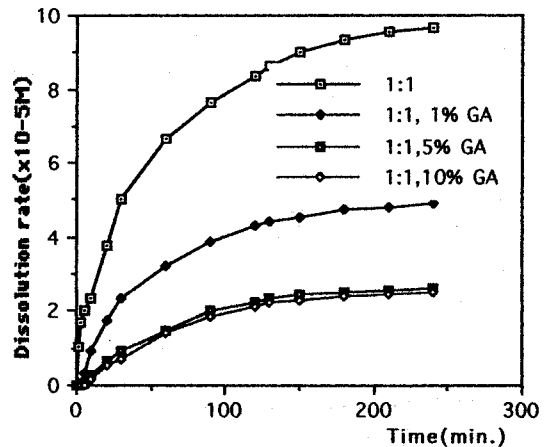


Figure 5—Dissolution profiles of silymarine from solid dispersed systems with chitosan(1:1) added glutaraldehyde at 37°C.

혼합물에서는 인공위액에서 단독약물에 비하여 120분일 때 약 34%의 용출지연이 있었으며, 인공장액에서는 180분과 240분에서 모두 32%의 용출지연을 나타내었다. 즉, CS의 양이 증가함에 따라서 용출은 현저히 감소함으로서 CS은 SL의 용출을 억제함을 확인하였다.

FA, GA, AA, BA로 경화시킨 SL-CS 고휘분산체에서의 용출

CS의 C₂위치에 있는 아미노기는 알데히드와 반응하여 Schiff's base를 형성하며, 이러한 특성은 생체적합성 고분자인 CS의 응용성에 유용하게 쓰인다. 이런 특성을 이용하여 많은 유도체 합성이 이루어

지고 있으며, CS 분산막 대부분은 알데히드에 의하여 경화되어 현저하게 용출을 지연시킨다. 이제까지 보고된 가교제로서는 GA가 많았으나 알데히드기의 종류에 따른 용출지연에 주목할 필요가 있음을 확인하였다. 먼저 알데히드에 의한 용출지연은 알데히드가 CS의 아미노기와 반응을 통해서 물과 수소결합을 할 수 있는 아미노기의 양을 감소시킴으로써 물과의 수소결합력이 감소되어 흡수율이 감소되는 것으로 생각된다.

각각의 알데히드특성이 가교화된 막에서 나타나는 것이 용출 시험을 통해 확인되었다. 가교화에는

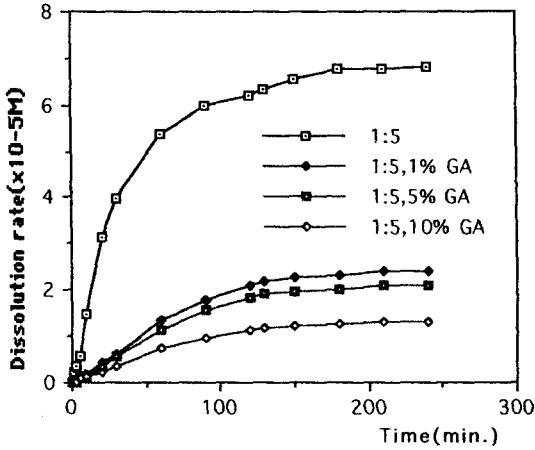


Figure 6—Dissolution profiles of silymarine from solid dispersed systems with chitosan(1:5) added glutaraldehyde at 37°C.

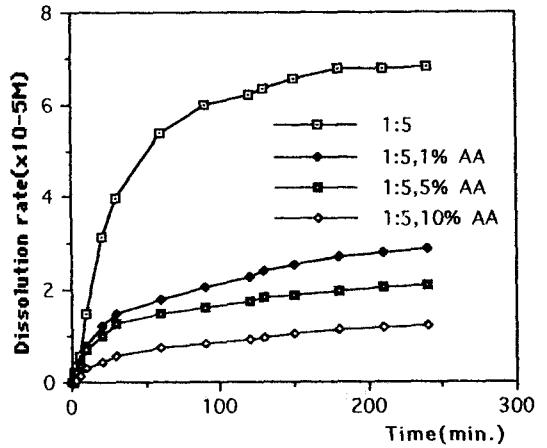


Figure 8—Dissolution profiles of silymarine from solid dispersed systems with chitosan(1:5) added acetaldehyde at 37°C.

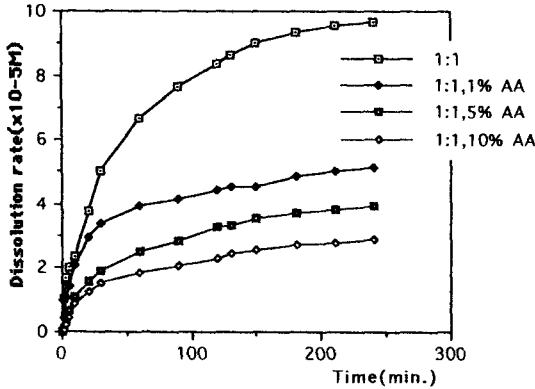


Figure 7—Dissolution profiles of silymarine from solid dispersed systems with chitosan(1:1) added acetaldehyde at 37°C.

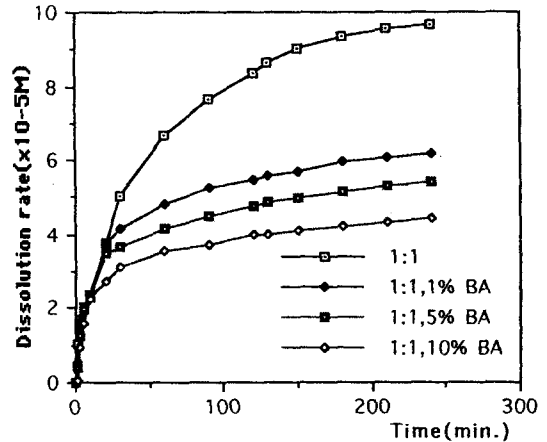


Figure 9—Dissolution profiles of silymarine from solid dispersed systems with chitosan(1:1) added butyraldehyde at 37°C.

FA, GA, AA, BA가 사용되었다. CS 분산막에 가해진 가교제의 종류와 양뿐만 아니라 시간에 의해 용출에 차이가 있을 것으로 추정되어서 가교화 시간을 1시간으로 한 후 가교제 종류와 양에 의한 용출을 검토하였다. 1:1과 1:5중량비의 SL-CS 고휘분산체를 1%, 5%, 10%의 FA, GA, AA, BA용액으로 1시간 경화후 남아있는 알데히드용액을 증류수로 충분히 세척한 후 완전히 건조시킨 다음 가교화된 CS 분산체를 묶은 염산용액에서 2시간 용출시키고 연속해서 인산염 완충액에서 용출시험하였다 (Fig. 3, 4 참조).

FA로 가교화한 1:1인 경우 염산산성에서는 가교화하지 않은 경우에 비하여, 1% 알데히드에서는

92%의 용출억제, 즉, 거의 용출되지 않았으며 인산염 완충액에서도 거의 같은 영향을 나타내었다. 5% 알데히드에서는 두 용매 모두에서 94%의 용출억제를, 그리고 10% 알데히드인 경우에도 거의 같은 영향을 보였다. 1:5의 경우에서도 1, 5, 10%의 알데히드로 가교시 대체로 가교화하지 않은 경우에 비하여 94%의 용출억제가 있었다. 따라서 1:1, 1:5의 혼합물과 가교화한 것을 비교할때 용출억제의 영향은 현저하였으며 알데히드의 농도에 따른 영향은 다소간의 차이가 있으나 유의성은 없었다.

GA로 가교화한 경우의 용출거동을 Fig. 5, Fig.

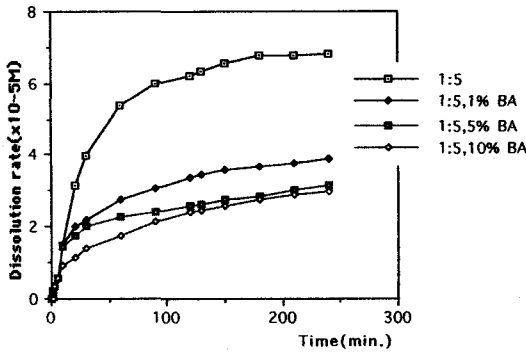


Figure 10—Dissolution profiles of silymarine from solid dispersed systems with chitosan(1:5) added butyraldehyde at 37°C.

6에 나타내었다. 1:1인 경우 가교화하지 않은 경우에 비하여 1% 알데히드농도로 가교화한 경우에서 45%, 73%, 74%의 방출억제를 보였는데 5%와 10%의 알데히드간에는 거의 같아서 5% 이상의 알데히드농도에서는 가교화의 강도에 변화가 없음을 확인하였다. 1:5에서는 방출억제가 각각 65%, 69%, 80%의 억제력을 보이므로서 1:1과는 달리 알데히드농도에 큰 영향을 받은 것을 확인하였다. AA로 가교화한 경우 1:1에서 1.5, 10%의 AA로 가교화한 경우 염산산성의 2시간에서 가교화하지 않은 것에 비교할때 47, 61, 72%의 방출억제를 나타내었고 계속된 인산염 완충액에서의 2시간에서도 47%, 59%, 70%의 방출억제를 보임으로써 알데히드농도에 따른 영향이 현저함을 나타내고 있다. 1:5에서는 방출저하가 다소 더 증가하여 4시간후의 가교화 하지 않은 것에 대해 58%, 70%, 82%의 방출저하를 보임으로 서방화가 더욱 현저하였다(Fig. 7, 8 참조).

1:1과 1:5와의 비교에서도 모두 거의 50%의 지연 효과가 있었다. BA로 가교화시 SL의 방출에 대한 영향은 Fig. 9, Fig. 10와 같다. 1:1에서는 1.5, 10%의 알데히드농도에 따라서 4시간후에 각각 36%, 44%, 54%의 방출저하를 나타내었다. 농도에 따라서 다소 현저한 차이가 있었으나 그 억제율은 다른 알데히드에 비하여 다소 떨어지는 편이다. 모든 알데히드류에 대해 알데히드농도가 증가할수록 방출지연을 보였으며 CS농도가 증가할수록 방출지연이 더 잘 되었다. 그리고 이 방출지연을 알데히드종류에 따라 비교 하였다.

모든 농도에서 FA>GA>AA>BA 순서로 방출지

연효과가 컸으며 특히 FA의 방출율은 4시간 방출시 10%를 초과하지 못했다. AA와 BA의 방출이 더 잘 된 것은 AA, BA용액이 물과 완전히 혼합되지 않은 현탁액이어서 FA와 GA에 비해 경화도가 떨어지기 때문인 것 같다. 그리고 알데히드로 경화시킨 고형 분산체의 색의 변화는 GA>BA>AA>FA 순으로 GA로 경화시킨 고형분산체가 가장 검게 변색된 것으로 보아 알데히드의 탄소수가 증가할수록 변색이 잘 된다고 생각된다.

CS encapsulated alginate bead의 인공위액에서의 방출

SL을 서방화하고자 본 실험이 행해졌으며 특히 서방화제로 유용성이 확보된 SA를 사용하였다. Alginate는 응용범위가 다양하며 서방형 matrix로 이용되고 있다. 건조되어 수축된 bead는 pH 7.0의 인산염 완충액에서 원래의 크기 이상으로 팽윤하며, 증류수나 pH 1.6의 KCl-HCl 완충액에서는 팽윤이 일어나지 않는다. 그러므로 건조된 젤 bead는 위에서는 그 형태를 유지하다가, 소장으로 옮겨져 팽윤이 일어나 함유된 약물의 방출을 조절할 수 있다. 본 실험에서는 양이온성 polysaccharide인 CS로 음이온성인 alginate bead 표면을 encapsulation함으로써 지속화를 하고자 했다. CS 농도 및 alginate 그리고, 염화칼슘 농도가 방출에 미치는 영향을 조사하였다. 이온강도를 맞추기 위해 SA를 0.85% 생리식염수 용액에 녹여 1.5%, 2% alginate 용액을 제조한 후 동량의 SL를 넣어 SL-SA 분산체를 제조 후 0.1%, 0.2%, 0.4% CS 용액에 각각 50 ml, 100 ml, 200ml의 1.5% 염화칼슘용액을 떨어뜨려 0.1, 0.2, 0.4% CS encapsulated bead를 만들어 회염산용액과 인산염 완충액에서 6시간씩 방출 실험을 했다.

인공위액에서 6시간동안 30% 정도가 방출되었으며 CS 농도가 증가할수록 방출이 증가하였다. 특히 SL의 방출은 염화칼슘과의 비가 1:1인 모든 경우에서 다소 현저한 경향을 나타내었으며 그 외에는 염화칼슘의 함량이 CS함량증가에 따른 약물방출에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 사료된다(Table I). 이것은 CS이 회산에 잘 녹기 때문인 것으로 생각된다. 1.5% alginate bead와 2% alginate bead에서의 차이점은 거의 발견할 수 없었다. 이러한 30% 정도의 방출은 장으로의 송달에 매우 유의한 결과이며 이것을 조금 더 보완한다면 위에서의 방출을 억제

Table I—Effect of Chitosan Concentration on the Release Profile of Silymarin from Sodium Alginate Beads Prepared with Calcium Chloride in Diluted Hydrochloric Acid at 37°C

Samples	Cumulative concentration(%)										
	5	10	20	30	60	90	120	180	240	300	360 min
0.1%(2:1)1.5%	4.90	7.10	10.20	11.40	14.80	16.60	17.90	20.50	22.80	24.30	25.90
0.2%(2:1)1.5%	2.78	4.92	8.05	10.80	15.59	17.69	19.22	21.19	23.29	24.74	26.47
0.4%(2:1)1.5%	3.42	4.91	8.24	10.87	16.51	19.41	22.44	25.11	26.66	28.40	29.85
0.1%(1:1)1.5%	4.50	7.20	11.60	14.40	18.30	20.70	22.90	26.20	28.40	30.00	32.00
0.2%(1:1)1.5%	4.33	5.69	9.37	12.11	18.21	21.61	23.80	26.65	29.22	31.07	32.94
0.4%(1:1)1.5%	4.13	6.34	10.45	13.51	19.70	22.69	25.74	28.81	31.02	32.57	34.54
0.1%(1:2)1.5%	3.30	4.90	8.00	10.90	15.70	18.50	20.20	22.70	24.60	26.50	28.60
0.2%(1:2)1.5%	3.91	5.36	8.57	11.10	17.06	19.97	22.21	24.96	27.50	29.68	31.84
0.4%(1:2)1.5%	3.42	4.91	8.24	10.87	16.51	19.41	22.44	25.11	26.66	28.40	29.85
0.1%(2:1)2.0%	2.60	3.30	4.80	6.10	9.50	11.60	13.20	16.40	18.50	20.40	21.60
0.2%(2:1)2.0%	3.40	4.10	6.40	7.60	11.00	13.90	15.90	18.60	21.10	23.20	24.10
0.4%(2:1)2.0%	1.60	2.90	5.50	7.30	12.40	15.50	17.80	22.50	25.00	27.90	29.10
0.1%(1:1)2.0%	3.40	4.30	6.20	7.80	11.30	14.40	17.40	19.80	20.90	21.70	22.50
0.2%(1:1)2.0%	3.95	4.85	7.33	9.08	13.83	16.37	19.30	22.35	25.38	27.71	29.26
0.4%(1:1)2.0%	2.11	3.40	5.99	8.21	12.54	16.32	19.14	23.19	26.50	29.06	31.45
0.1%(1:2)2.0%	3.70	4.40	6.40	7.60	10.40	13.00	15.80	18.50	20.60	22.20	23.30
0.2%(1:2)2.0%	2.31	4.13	6.94	9.32	13.59	16.96	19.36	22.76	26.05	29.14	30.11
0.4%(1:2)2.0%	1.94	3.14	5.38	7.49	13.57	18.87	21.45	24.51	26.39	27.99	29.69

하고 장에 이르러 약물이 방출되는 제제의 개발이 가능하리라고 사료된다.

CS encapsulated alginate bead의 인공장액에서의 용출

Bead를 인산염 완충액에서 6시간 용출시 나타나는 방출율을 Table II에 나타내었다. 인공위액에서와는 반대로 CS의 농도가 증가할수록 주약의 방출이 억제되고 있으며 0.1%에 비하여 0.4%의 경우에는 22~40%의 현저한 방출지연의 결과를 보이고 있다. 이는 CS이 알칼리액에 녹지 않는 것에 기인된 것으로 보인다. 그러나 염화칼슘의 양에 따른 영향은 염화칼슘의 양이 증가할수록 약물의 방출이 다소 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 CS막이 얇아 alginate가 인산염 완충액에 민감하게 반응하기 때문으로 생각된다. SA의 농도에 따른 영향은 CS의 함량이 0.1, 0.2%인 경우에는 약물방출에 대한 영향이 거의 없으나 0.4%일 때는 3~19%의 방출증가를 나타내었다.

CS encapsulated alginate bead의 약물 봉입율

Alginate 농도가 높으면 봉입율이 높을 것으로 예상하고 실험하였다. CS encapsulated alginate bead를 pH 6.8의 인산염 완충액에서 6시간 용출후 paddle로 60분간 분쇄후 5분간 sonication하여 봉입율을 측정하였다. Alginate 농도차이가 별로 나지않아 크게 차이는 없지만, alginate의 농도가 2%인 경우의 bead가 봉입효율이 다소 높은 경향을 나타내었다(Fig. 11, 12 참조).

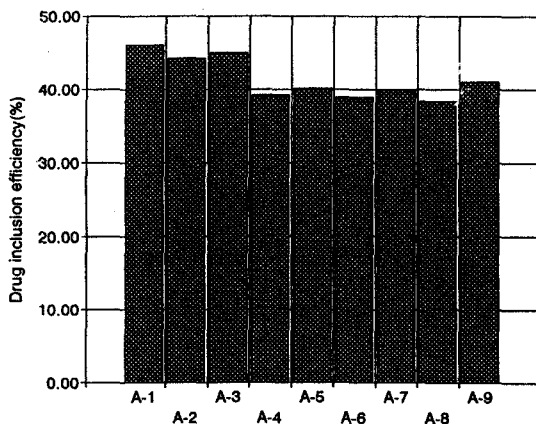
결론

이상의 실험결과로부터 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

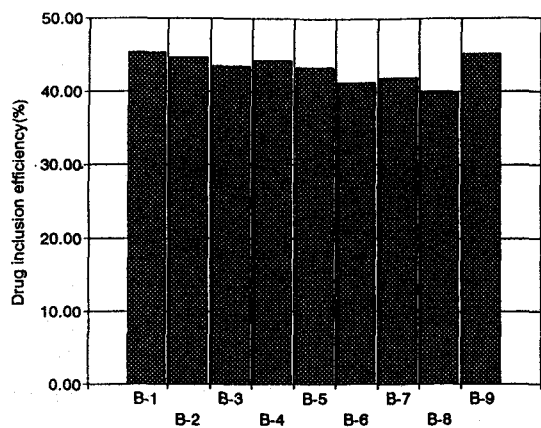
- 1) Silymarin은 인공위액에서의 용출이 용이하며 인공장액에서는 현저한 지연성을 나타내었다.
- 2) Silymarin과 CS의 혼합비를 1:1, 1:5로 혼합한 고형분산체에서의 약물방출성은 인공위액에서 1:1인 경우에는 큰 차이가 없었으나 1:5인 경우에는 방출성의 차이가 현저하였다.

Table II—Effect of Chitosan Concentration on the Release Profile of Silymarin from Sodium Alginate Beads Prepared with Calcium Chloride in Phosphate Buffer Solution at 37°C

Samples	Cumulative concentration(%)										
	5	10	20	30	60	90	120	180	240	300	360 min
0.1%(2:1)1.5%	2.20	4.40	9.70	16.60	39.90	61.80	75.50	85.90	91.50	94.50	96.30
0.2%(2:1)1.5%	2.06	3.76	7.91	11.45	31.28	50.35	65.38	76.25	82.93	86.22	88.12
0.4%(2:1)1.5%	3.08	5.02	8.95	12.72	23.24	31.22	40.98	56.41	63.68	70.17	74.93
0.1%(1:1)1.5%	2.20	4.30	6.80	12.40	34.60	57.30	69.20	84.90	91.20	93.90	95.80
0.2%(1:1)1.5%	3.08	4.78	9.07	13.28	24.09	31.62	38.29	49.67	57.10	64.80	72.66
0.4%(1:1)1.5%	3.84	6.70	10.93	13.70	23.71	32.09	37.75	46.81	54.99	60.89	67.28
0.1%(1:2)1.5%	2.12	3.51	6.54	10.24	29.60	45.21	63.34	84.07	91.74	94.89	98.75
0.2%(1:2)1.5%	2.36	4.54	8.50	12.29	22.19	29.63	28.03	55.06	64.70	74.12	82.44
0.4%(1:2)1.5%	3.17	5.32	9.54	13.37	24.12	31.92	39.17	52.59	63.35	70.14	77.59
0.1%(2:1)2.0%	2.10	3.94	8.21	12.79	35.65	50.45	68.73	86.58	94.26	99.35	99.52
0.2%(2:1)2.0%	1.27	2.29	5.29	8.61	23.99	40.02	57.40	77.84	88.28	94.25	97.40
0.4%(2:1)2.0%	2.01	3.67	7.29	10.84	18.91	25.66	31.09	40.83	49.35	55.49	60.16
0.1%(1:1)2.0%	1.23	2.80	6.89	11.01	26.65	47.72	66.51	85.43	94.08	96.52	98.62
0.2%(1:1)2.0%	2.01	6.91	10.44	14.26	25.68	39.85	58.92	77.29	88.95	94.50	97.53
0.4%(1:1)2.0%	1.98	3.17	6.92	10.28	18.58	25.48	31.81	42.59	51.27	57.77	64.16
0.1%(1:2)2.0%	1.69	3.21	6.86	10.76	22.47	38.90	55.76	80.28	91.43	95.28	98.71
0.2%(1:2)2.0%	1.19	2.82	5.00	11.75	23.67	39.25	53.80	73.30	84.03	91.77	97.63
0.4%(1:2)2.0%	2.62	5.27	8.10	11.26	19.14	25.13	30.15	37.87	44.81	51.69	58.80

**Figure 11**—Drug inclusion efficiency of 1.5% alginate beads.

Key : A-1; 0.1% CS-1.5% SA bead(CaCl₂ 50 ml), A-2; 0.1% CS-1.5% SA bead(CaCl₂ 100 ml), A-3; 0.1% CS-1.5% SA bead(CaCl₂ 200 ml), A-4; 0.2% CS-1.5% SA bead(CaCl₂ 50 ml), A-5; 0.2% CS-1.5% SA bead(CaCl₂ 100 ml), A-6; 0.2% CS-1.5% SA bead(CaCl₂ 200 ml), A-7; 0.4% CS-1.5% SA bead(CaCl₂ 50 ml), A-8; 0.4% CS-1.5% SA bead(CaCl₂ 100 ml), A-9; 0.4% CS-1.5% SA bead(CaCl₂ 200 ml)

**Figure 12**—Drug inclusion efficiency of 2.0% alginate beads.

Key : B-1; 0.1% CS-2.0% SA bead(CaCl₂ 50 ml), B-2; 0.1% CS-2.0% SA bead(CaCl₂ 100 ml), B-3; 0.1% CS-2.0% SA bead(CaCl₂ 200 ml), B-4; 0.2% CS-2.0% SA bead(CaCl₂ 50 ml), B-5; 0.2% CS-2.0% SA bead(CaCl₂ 100 ml), B-6; 0.2% CS-2.0% SA bead(CaCl₂ 200 ml), B-7; 0.4% CS-2.0% SA bead(CaCl₂ 50 ml), B-8; 0.4% CS-2.0% SA bead(CaCl₂ 100 ml), B-9; 0.4% CS-2.0% SA bead(CaCl₂ 200 ml)

3) 알데히드로 가교화한 고휘분산체의 색의 변화는 GA>BA>AA>FA 순으로 현저하였다.

4) 알데히드로 가교화한 고휘분산체에서의 약물 방출은 FA>GA>AA>BA 순으로 지연효과가 증가하였다.

5) 알데히드의 농도에 따른 영향은 FA의 경우만 현저한 차이가 없었으나 GA, AA, BA는 다소 큰 방출성의 차이를 나타내었다.

6) 인공위액에서 CS과 알긴산나트륨으로 만든 bead의 약물방출은 6시간 안에 대체로 30%전후로서 방출이 현저히 지연되었으나 CS의 함량증가에 따른 영향은 다소 증가 하였지만 유의한 차이는 없었다. 그러나 알긴산나트륨의 함량 증가에 따라서는 방출지연이 다소 높았다.

7) 인공장액에서의 CS와 sodium alginate bead에서의 약물방출은 CS 함량 증가에 따라서 방출지연이 현저하였으나 sodium alginate 함량증가에 따라서는 반대로 방출이 현저하였다.

8) 염화칼슘의 양에 따른 유의한 영향은 없었다.

9) Alginate 농도에 따른 봉입률은 대체로 그 차이가 현저하지 않았다.

감사의 말씀

본 연구는 1994년도 경희대학교 교내 연구비에 의하여 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

문헌

- 1) R.A.A. Muzzarelli, Amphoteric derivatives of chitosan, *Proc. 4th Intl. Conference on chitin & chitosan, in preparation.* (1977).
- 2) S. Miyazaki, K. Ishii and T. Nadai, The use of chitin and chitosan as drug carriers, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3067-3069 (1981).
- 3) J. Knapczyk, A.B. Macura and B. Pawlik, Simple tests demonstrating the antimycotic effect of chitosan, *Int. J. Pharm.*, **80**, 33-38 (1992).
- 4) S.H. Hirano, Chemistry of chitin and chitosan. *Kagaku(Kyoto)*, **43**, 155-166 (1988).
- 5) I.W. Hillyard, J. Doczi and P.B. Kiernan, Antacid and antiulcer properties of the polysaccharide chitosan in the rat, 29128., *Dept. of pharmacology.* Boston Univ., 1108-1112 (1964).
- 6) N.A. Ashford, D. Mattis and A.E. Murray, Industrial prospects for chitin and protein from shellfish wastes, MITSG 77-3 NO. 77-703-zle (1977).
- 7) S. Tokura and N. Nishi, New utility of natural polysaccharides, *Chemistry and Biology*, **15**, 766-774 (1977).
- 8) Sigehiro, Chemistry of chitin and chitosan, *Kagaku*, **43**, 155-160 (1988).
- 9) M.P. Gordnier, J. Brener and S.W. Tanebaum, Chitin metabolism, Not a target of avermectin/milbemycin activity in insects, *Antibiot., Jan*, 110-112 (1987).
- 10) G.V. Vahoung, S. Satchthanandam, M.M. Cassidy, F.B. Lightfoot and I. Furda, Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat, *Am. J. Clin. Nutr.*, **38**, 278-284 (1983).
- 11) M. Sugano, T. Fujikawa, Y. Hiratusuji, K. Nakashima, N. Fukada and Y. Hasegawa, A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats, *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 787-793 (1980).
- 12) Y.Sawayangi, N. Nambu and T.Nagai, Enhancement of dissolution properties of griseofulvin from ground mixtures with chitin or chitosan, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4464-4467 (1986).
- 13) Y. Kawashima, S.Y. Lin, A. Kasai, T. Handa H. Takenaka, Preparation of a prolonged release tablet of aspirin with chitosan, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 2107-2113 (1985).
- 14) S.Miyazaki, K. Ishii and T. Nadai, The use of chitin and chitosan as drug carriers, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3067-3069 (1981).
- 15) Y. Nishioka, S. Kyotani, M. Okamura, M. Miyazaki, K. Okazaki, S. Ohnishi, Y. Yamamoto and K. Ito, Release characteristics of cisplatin chitosan microspheres and effect of containing chitin, *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 2871-2873 (1990).
- 16) Y. Nishioka, S. Kyotani, H. Masui, M. Okamura, M. Miyazaki, K. Okazaki, S. Ohnishi, Y. Yamamoto and K. Ito, Preparation and release characteristics of cisplatin albumin microphe-

- res containing chitin and treated with chitosan, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 3074-3077 (1989).
- 17) C. Yomata, T. Komuro and T. Kimura, Studies on the degradation of chitosan films by lysozyme and release of loaded chemicals, *Yakugaku Zasshi*, **110**, 442-448 (1990).
 - 18) W.L. Chiou and S. Riegelman, Oral absorption of griseofulvin in dogs; Increased absorption via solid dispersion in PEG 6000, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 937-941 (1970).
 - 19) I.B. Koh, S.C. Shin and Y.B. Lee, Enhancement of dissolution properties of ketoprofen from ground mixtures with chitin of chitosan, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **16**, 36 (1986).
 - 20) Y. Kawashima, T. Handa, A. Kasai, H. Takenaka and S.Y. Lin, The effects of thickness and hardness of the coating film on the drug release rate of theophylline granules coated with chitosan-sodium tripolyphosphate complexes, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 2469-2474 (1985).
 - 21) I.B. Koh, S.C. Shin and Y.B. Lee, Enhanced dissolution rates of piroxicam from the ground mixtures with chitin of chitosan. *Arch. Pharm. Res.*, **9**, 55 (1986).
 - 22) Y. Sawayanagi, N. Nambu and T. Nagai, Dissolution properties and bioavailability of phenytoin from ground mixtures with chitin or chitosan, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 2064-2068 (1983).
 - 23) Y. Kawashima, S.Y. Lin, A. Kasai, T. Handa and H. Takenaka, Preparation of prolonged release tablet of aspirin with chitosan, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 2107-2113 (1985).
 - 24) W.M. Hou, S. Miyazaki, M. Takeda and T. Komai, Sustained release of indomethacin from chitosan granules, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3986-3992 (1985).
 - 25) S. Miyazaki, H. Yamaguchi, C. Yokouchi, M. Takeda and W.M. Hou, Sustained release and intragastric floating granules of indomethacin using chitosan in rabbits, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4033-4038 (1988).
 - 26) S. Miyazaki, H. Yamaguchi, C. Yokouchi, M. Takeda and W.M. Hou, Sustained release of indomethacin from chitosan granules in beagle dogs, *J. Pharm. Pharmacol.*, **40**, 642-643 (1988).
 - 27) S. Miyazaki, K. Ishii and T. Nagai, The use of chitin and chitosan as drug carriers, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3067-3069 (1981).
 - 28) Y. Sawayanagi, N. Nambu and T. Nagai, Use of chitosan for sustained release preparations of water soluble drugs, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4213-4215 (1982).
 - 29) F. Acarturk, Preparation of a prolonged release tablet formulation of diclofenac sodium using chitosan, *Pharmazie*, **44**, 547-549 (1989).
 - 30) K. Inouye, Y. Machida, T. Sannan and T. Nagai, Buoyant sustained release granules based of chitosan, *Drug Design and Delivery*, **2**, 55-67 (1989).
 - 31) K. Nakai and I. Sadakami, Preparations of sustained release, *Japan Patent*, 62-81328 (1987).
 - 32) W.M. Hou, S. Miyazaki and M. Takeda, Intragastric floating and sustained release tablets using chitosan and chitosan hydrochloride, *Yakuzaigaku*, **51**, 93-99 (1991).
 - 33) W.M. Hou, S. Miyazaki and M. Takeda, Preparation and evaluation of sustained release granules of ibuprofen using chitosan, *Yakuzaigaku*, **50**, 58-61 (1992).
 - 34) S. Miyazaki, H. Yamaguchi, C. Uokouchi, M. Takeda and W.M. Hou, Sustained release of indomethacin from granules in beagle dogs, *J. Pharm. Pharmacol.*, **40**, 642-643 (1988).
 - 35) F.G. Donnan and R.C. Rose, Osmotic pressure, molecular weight, and viscosity of sodium alginate, *Can. J. Res.*, **28**, 105-113 (1950).
 - 36) T. Yotsuyanagi, T. Okubo and K. Ikeda, Calcium-induced gelatin of alginic acid and pH-sensitive reswelling of dried gels, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1555-1563 (1987).
 - 37) C. Buchner, Alginic acid, *J. Chem. Soc.*, 3974 (1961).
 - 38) A. Cesars, Interaction of divalent cations with polyuronates, *J. Chem. Fara. Trans.*, **84**, 2573-2584 (1988).
 - 39) R. Bodmeir and J. Wang, Microencapsulation of drugs with aqueous colloidal polymer dispersion, *J. Pharm. Sci.*, **82**, 191-194 (1993).