

## 염산 프로프라놀롤 - 고체 분산계 - 폴리비닐알코올 하이드로겔 중공좌제로부터의 약물방출

정진훈 · 이정연 · 구영순<sup>†</sup>

이화여자대학교 약학대학

(1996년 9월 30일 접수)

### Controlled Release of Propranolol Hydrochloride(PPH) from PPH-Solid Dispersion System-Polyvinyl Alcohol Hydrogel Hollow Type Suppository

Jeen Hoon Chung, Jeong Yeon Rhie and Young Soon Ku<sup>†</sup>

College of Pharmacy, Ewha Womans University, 11-1 Daehyundong,  
Seodaemun-gu, Seoul 120-750, Korea

(Received September 30, 1996)

In order to develop the controlled release of a drug from the suppositories, in vitro drug release and in vivo absorption in rabbits were investigated. Various suppository forms with hollow cavities, into which drugs in the form of fine powder or solid dispersion system(SDS) could be placed, were utilized. The polyvinyl alcohol(PVA) hydrogel as a base, and propranolol · HCl(PPH) as a model drug were employed. In vitro drug dissolution studies showed that the dissolved amounts(%) of PPH from PPH-methylcellulose(MC)-SDS and PPH-ethylcellulose(EC)-SDS reached 100% and 63% in 4.5-hours, respectively. In the relative strength test for PVA hydrogel, PVA hydrogel became harder and more rigid when the number of freezing-thawing cycles and the ratio of PVA 2000 were increased. In vitro drug release profile revealed that the release rate(%) of PPH from PPH-EC-SDS and PPH-MC-SDS hollow type suppositories were sustained. The release amount(%) of PPH from PPH-EC-SDS hollow type suppositories was not affected by storage time, but since the use of hydrophilic MC made PPH diffuse into the hydrogel after it absorbed the water of base, the various release patterns were appeared as the storage time went by. In vivo absorption experiments with rabbits showed that PPH-EC-SDS(PPH : EC=1:3) hollow type suppository delayed the absorption of PPH, significantly. The  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-6}$  and MRT of PPH powder hollow type suppository were  $196.37 \pm 5.63$  ng/ml,  $1105.26$  ng/ml/min and  $8.66$  min, respectively. The  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-6}$  and MRT of PPH-EC-SDS(PPH : EC=1:3) were  $91.30 \pm 14.14$  ng/ml,  $554.69$  ng/ml/min,  $235.99$  min, respectively.

**Keywords**—Hollow type suppository, Solid dispersion system, Release control, Hydrogel, Polyvinyl alcohol, Propranolol · HCl, Rectal absorption

약물의 투여경로는 생체 이용률에 많은 영향을 미친다. 직장투여는 경구투여시 나타나는 위장장애를 피할 수 있고 경구투여가 부적절한 환자의 투여형태로서 적합하다. 또한 직장투여시 약물은 직접 전신순환계로 이행하므로 간초회통과를 피할 수 있어 약물의 불활성화 비율이 경구 투여시 보다 적다. 또한 취침전 및 수

면 중에 투여가 가능한 것도 직장투여의 장점이다.<sup>1-2)</sup> 좌제로부터 주약의 방출은 좌제 형태에 따라서도 제어될 수 있으나 기제 자체의 성질 및 기체에 첨가되는 여러 첨가물에 의해서도 제어될 수 있다. Nakajima<sup>3-6)</sup> 등은 약물을 마이크로캡슐화하여 Witepsol H-15(WH-15)기제 또는 폴리에틸렌 글리콜 기체에 분산시키거나 hydrogenated soybean lecithin을 WH-15기체에 첨가하여 좌제의 경도를 강화시켜 약물의 방

<sup>†</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

출을 지속화하였다. Kawashima<sup>7-9)</sup> 등은 WH-15에 알기닌산을 첨가하거나 acidic polymer electrolyte와 반응시켜 베감파실린 좌제의 약물의 지속적 방출을 피하였다. Morimoto<sup>10,11)</sup> 등은 기체 자체에 의한 주약의 방출 지속화를 목적으로 기체로 폴리비닐알코올 하이드로젤을 사용하였다. 하이드로젤<sup>12,13)</sup>은 물을 흡수하여 팽윤되나 물에 용해되지 않는 고분자 물질로 높은 생체 적합성을 가지며, 친수성 중합체로 이루어진 compartment와 물로 구성된 compartment의 two-compartment system으로 구성된 삼차원 망상구조 (three-dimensional network)로 되어 있다. 그 중 폴리비닐알코올 하이드로젤은 수분 함유량이 높고 질감이 부드러운 고무와 같아 생체 조직과 물리적 특성이 유사하고 세포 및 조직에 기계적인 자극이 적으며, 표면과 수용액 사이에서의 계면 장력이 낮으므로 체액에서의 단백질 흡착이 적다. 또 폴리비닐알코올 하이드로젤은 독성이 적고 생체 적합성이 우수하여 biomedical 분야, 특히 경피흡수제의 기체 또는 인공장기로써 응용되고 있다.<sup>14-16)</sup> Peppas와 Merrile<sup>17)</sup> 등은 electron beam irradiation법과  $\gamma$ -ray조사법에 의해 폴리비닐알코올 하이드로젤을 제조하였으며, Ikada<sup>18)</sup> 등은 동결과 용해과정을 반복하여 폴리비닐알코올 하이드로젤을 제조하였다. 그리고, Takamura<sup>19)</sup> 등은 폴리비닐알코올 하이드로젤에 소듐 알기네이트 및 pluronic L-62를 첨가하여 주약의 방출을 제어하였다. 폴리비닐알코올 하이드로젤의 강도와 팽윤도는 폴리비닐알코올의 gel화 정도, 분자내 사슬의 길이, 동결 시간, 동결 온도, 용해 시간, 용해 온도 및 동결-용해 조작의 반복 횟수 등에 영향을 받는다. 그러므로 적당한 조건으로 제조하면 약물 방출을 제어할 수 있는 수용성 고분자 하이드로젤의 제조가 가능하다.

중공좌제는 통상형 좌제의 제한점들을 보완하기 위해 Matsumoto<sup>20)</sup> 등에 의해 고안되었는데 좌제 내부에 0.5 cm<sup>3</sup> 정도의 중공부(cavity)를 가지고 있으므로 약물봉입시 기체 선택의 제한이 적고, 여러 형태의 약물 봉입이 가능하다. 또한 주약의 용량이 적어 함량 균일성을 갖기 어렵거나 기체 중에 분산, 혼합이 곤란한 약물 (peptide류) 등에도 적용가능하며, 약용량을 조절하여 좌제를 제조할 수 있으므로 소아과 및 노인과의 직장 투여에도 적합하다.

이<sup>21)</sup> 등은 기체로서 폴리비닐알코올 하이드로젤을 사용하여 통상형 좌제와 약물 봉입방법을 달리한 4종류의 중공좌제를 제조하였는데 그 중 원말의 반은 기체

에 분산시키고 나머지 반은 인도메타신-폴리에틸렌글리콜 300용액으로 중공부에 봉입한 중공좌제가 토기에서 통상형 좌제의 1.6배의 AUC를 나타내었으며 지속적인 직장 흡수를 보였음을 보고하였다.

Takamura<sup>19)</sup> 등은 폴리비닐알코올의 중합도 및 농도, 동결-용해 온도를 변화시켜 얻은 폴리비닐알코올 하이드로젤의 강도를 측정하였는데 폴리비닐알코올의 중합도가 크고 용해 온도가 높을수록 하이드로젤의 물리적 강도가 증가함을 보고하였다. Peppas<sup>17)</sup>와 Urushizaki<sup>13)</sup> 등은 동결-용해과정을 반복하고 중합도가 큰 폴리비닐알코올로 하이드로젤을 제조할 경우 망상구조가 치밀해지고 가교도가 증가하여 팽윤도가 감소하므로 성형된 폴리비닐알코올 하이드로젤의 강도가 증가함을 보였다.

수용성 약물의 고체분산계(solid dispersion system, SDS)의 제조는 적합한 물리적 특성을 가지는 소수성 혹은 친수성 고분자를 선택하여 수용성 약물의 서방화를 가능하게 할 수 있다. 김<sup>22)</sup>은 수용성 약물인 염산 프로프라놀롤을 모델 약물로 하고 에칠셀룰로오스, 메칠셀룰로오스, 히드록시프로필 메칠셀룰로오스 및 히드록시프로필 셀룰로오스 등을 담체로 한 고체분산계를 제조하여 용출 특성을 검토한 바 에칠셀룰로오스, 메칠셀룰로오스 등으로 제조한 고체분산계로부터의 용출이 지속적이었다. Schwartz<sup>23)</sup> 등은 아스피린을 메칠셀룰로오스와 히드록시프로필 메칠셀룰로오스로 코팅하였는데 메칠셀룰로오스로 코팅한 경우 37°C에서 약물 방출을 지속화시킨다는 것을 밝혔다. 메칠셀룰로오스는 50°C에서 gel화가 일어나므로 생성된 정제표면의 gel이 방출의 barrier로 작용한다. Yuasa<sup>24-26)</sup> 등은 에칠셀룰로오스, 메칠셀룰로오스, Eudragit RS, 히드록시프로필 셀룰로오스 등의 고분자를 담체로 사용한 고체분산계를 제조하여 수용성 약물인 염산 옥소프레놀롤의 서방화의 가능성을 제시한 바 있다. Graham<sup>27)</sup> 등은 카복시메칠소듐 셀룰로오스, 소듐 알기네이트 및 황산 콘드로이친 등의 거대분자와 염산 프로마진 및 염산 클로로프로마진 등의 수용성 약물로 공침물을 형성시켰을 때 수용성 약물을 단독 투여하였을 때 보다 약물 방출의 지속성이 나타남을 보고하였다.

염산 프로프라놀롤<sup>28,29)</sup>은 수용성 약물이고  $\beta$ -adrenergic blocking agent로서 부정맥, 협심증, 고혈압 등의 치료에 사용된다. 경구 투여시 위장관에서 거의 완전히 흡수되나 95% 이상이 간에서 초회 통과 효과를 받아 4-히드록시 프로프라놀롤과 초산 나프록시 등 최소한 8종류의 대사물로 대사되며 유효 혈중 농도

는 50~100 ng/ml로서 혈중 농도에 환자간 연령간 개체차가 크다. 또 염산 프로프라놀롤은 반감기가 2~3시간으로 투여 후의 흡수와 배설이 단시간내에 일어난다. 그러므로 이러한 단점을 개선하는 투여경로의 개발이 요구되며 약물의 방출을 제어하기 위한 제제의 필요성이 요망된다. 이와같은 연구의 목적으로 모델 약물로 염산 프로프라놀롤의 방출을 제어하는 좌제로의 연구는 의의가 있다고 생각된다.

본 연구에서 중공좌제에 사용한 폴리비닐알코올 하이드로겔 기제는 폴리비닐알코올 1500 : 폴리비닐알코올 2000의 비율을 0:1, 1:1, 1:2, 1:5로 혼합하고, 각각에 대하여 동결-융해를 1회(14시간의 동결 및 22시간의 융해)부터 4회까지 반복하였다. 중공부에 원말을 봉입한 중공좌제의 방출률은 폴리비닐알코올 2000만으로 제조한 중공좌제로부터의 방출시험결과와 차이가 없었다. 그러므로 폴리비닐알코올 2000만으로 제조한 것을 좌제 기제로 선택하여 1종의 통상형 좌제와 중공부에 염산 프로프라놀롤 원말, 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS 및 염산 프로프라놀롤-메칠셀룰로오스-SDS를 봉입한 3종류의 중공좌제를 제조하여 방출양상을 비교하였고, 이 중 중공부에 염산 프로프라놀롤 원말과 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS(염산 프로프라놀롤 : 에칠셀룰로오스=1:3)를 봉입한 좌제의 토끼 직장 흡수실험을 통하여 약물의 흡수 양상을 검토하였다.

## 실험방법

### 시약 및 재료

시약은 염산 프로프라놀롤(대웅제약, 약전품), 염산 라베타롤, 에칠셀룰로오스(Hayashi pure chemical industries Ltd. abt 49% ethoxy 45 cps), 메칠셀룰로오스(Junsei chemical Co. Ltd.), 무수 에칠 알코올(James Burrough. F.A.D. Ltd. U.K.), 이수소인산칼륨(Duksan Pharmaceutical Co. Ltd.), 헤파린(녹십자), 메탄올(HPLC용, Merck Chemical Co.), 질소가스(대한산소), 수산화나트륨(Duksan Pharmaceutical Co. Ltd.), 탄산나트륨(Kanto Chemical Co. Inc.), 무수탄산나트륨(Duksan Pharmaceutical Co. Ltd.), 에테르(Showa Chemicals Inc.), 인산(Duksan Pharmaceutical Co. Ltd.), 폴리비닐알코올(Hayashi Pure Chemical Industries Ltd., degree of saponification, 99.5 mol%, mean degree of polymerization, 2000)등을 사용하였으며

사용된 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다.

### 기 기

UV-Spectrophotometer(Beckman DU<sup>®</sup>-66), 용출기(Fine Scientific Instruments, DST 300 HP 8452A Diode array Spectrophotometer, Hewlett Packard), pH-meter(Corning pH meter 245), Multimagnetic Stirrer(Labline Instruments, Inc.), Chemical Balance(Mettler, AE269, Delta Range), Millipore filter(pore size: 0.45  $\mu$ m, HVLP 04700, HVHP 04700), Sonicator( $\alpha$ -Tech, 경일 초음파 공업(주)), 좌제 방출 실험기(한양종합상사), Vortex mixer(Scientific Industries Inc.), 좌제기(ERBO Prazisions-Formenbau GmbH D-7470 Albstadt 3), HPLC (Waters : W-501 HPLC pump, W-420 fluorescence Detector, W-745B data module), Centrifuge(한일산업사, Type HA-12), Autopipet(Gilson), Microcentrifuge(Sarstedt MH2), PE tube(1.3 cm  $\times$  9.8 cm), 항온조(Fine Scientific Instruments), 등을 사용하였다.

### 염산 프로프라놀롤-SDS의 제조

Chiou<sup>등<sup>22,30</sup></sup>의 solvent method에 준하여 염산 프로프라놀롤-SDS를 제조하였다. 염산 프로프라놀롤과 에칠셀룰로오스 및 메칠셀룰로오스의 비가 1:1, 1:2, 1:3, 1:5가 되도록 염산 프로프라놀롤 2g에 에칠셀룰로오스 및 메칠셀룰로오스를 균일하게 혼합하여 단순 혼합물로 한 후 100 ml의 무수 에탄올을 조금씩 가하여 계속 교반하면서 용해(에칠셀룰로오스) 혹은 현탁(메칠셀룰로오스)시켰다. 이 용액 혹은 현탁액을 수욕상에서 계속 교반하여 용매를 증발시킨 다음 실온에서 24시간 건조시켰다. 건조 후 얻은 필름상의 시료는 분쇄기로 분쇄하여 염산 프로프라놀롤-SDS로 하였다.

### 염산 프로프라놀롤-SDS 중 약물의 함량측정<sup>31</sup>

염산 프로프라놀롤 3mg에 해당하는 염산 프로프라놀롤-메칠셀룰로오스-SDS 약 12.0 mg을 정밀하게 칭량하고 pH 7.4 인산염 완충액을 첨가하여 24시간동안 교반하여 용해시키고 정확히 100.0 ml로 한 후 289 nm에서 흡광도를 측정하여 위의 검량선식(A)에 의해 함량을 측정하였다. 또한 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS는 염산 프로프라놀롤 3mg에 해당하는 시료를 무수에탄올에 용해하여 위의 검량선식(B)에 의해 함량을 측정하였다.

### 염산 프로프라놀롤-SDS 중 약물의 용출시험

Paddle법(K.P. VI)을 준용하였다. 염산 프로프라놀

를-SDS를 100 mesh의 basket에 넣고 용출용기 바닥에 가라앉히고 용출용매로는 pH 7.4 인산염 완충액 400 ml를 사용하였다. 37±0.5°C를 유지하면서 50 rpm으로 교반하고 10, 20, 30, 45분 및 1, 1.5, 2, 3, 4.5, 6, 9, 12, 24시간 간격으로 2 ml씩 검액을 채취한 후 2 ml의 용매로 보충하고 289 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**좌제의 제조 및 기제의 강도 시험**

Morimoto<sup>10,11)</sup> 등의 low-temperature crystallization method를 준용하였다. 1/15M 인산염 완충액(pH 7.4)에 폴리비닐알코올 2000을 첨가하여 121°C에서 7분간 고압멸균하여 18%(w/v)로 폴리비닐알코올 용액을 제조하여 Watanabe<sup>3,4)</sup> 등이 고안한 adaptor가 장치된 금속좌제틀에 부었다. 폴리비닐알코올을 crystallization하기 위해 -20°C에서 14시간동안 동결시킨 후 4°C에서 22시간동안 융해시켜 하이드로젤을 얻은 후 24시간 냉장고에서 방치하여 Table I 과 같이 염산 프로프라놀롤 좌제를 제조하였다.

Type 1은 기제로 18% 폴리비닐알코올 2000용액에 염산 프로프라놀롤 원말(20 mg)을 분산시켜 틀에 부어 성형하고 동결-융해과정을 1회에서 4회까지 반복하여 만든 통상형 좌제이다. Type 2는 폴리비닐알코올 1500 : 폴리비닐알코올 2000의 비율을 0:1, 1:1, 1:2 및 1:5로 한 18% 폴리비닐알코올 용액을 틀에 부어 1회에서 4회까지 동결-융해과정을 거쳐 중공좌제를 성형하고 중공부에 염산 프로프라놀롤 원말(20 mg)을 봉입하였다. Type 3은 중공부에 염산 프로프라놀롤

20 mg에 해당하는 염산 프로프라놀롤-메칠셀룰로로스-SDS 및 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로로스-SDS (염산 프로프라놀롤과 메칠셀룰로로스 또는 에칠셀룰로오스의 비율을 1:1, 1:2, 1:3, 1:5로 하여 제조한 SDS)를 봉입한 좌제이다.

기제의 강도는 동결과 융해과정을 거친 폴리비닐알콜 2000 하이드로젤 기제의 강도를 기준으로하여 1회에서 4회까지 동결-융해를 반복하고 폴리비닐알콜 1500 : 폴리비닐알콜 2000의 비율이 0:1, 1:1, 1:2, 1:5인 하이드로젤기제 각각에 대해 상대적 강도를 측정하였다. 강도 측정은 hardness durometer type A를 사용하였고 시료로는 크기를 10.0×60.0×8.0 mm으로 한 판상으로 하였다.

**좌제로부터의 약물 방출시험**

Paddle법(K.P. VI) 을 준용하였다. Stainless steel wire mesh(sinker)에 제조한 좌제를 넣은 후 방출용매의 용기바닥에 가라앉혔다. 방출용매로는 pH 7.4 인산염 완충액 400 ml를 사용하여 37±0.5°C를 유지하면서 50 rpm으로 교반하고 10, 20, 30, 45분 및 1, 1.5, 2, 3, 4.5, 6, 9, 12, 24시간 간격으로 2 ml씩 검액을 채취한 후 2 ml의 용매로 보충하고 289 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**토끼 직장흡수 실험**

염산 프로프라놀롤 정맥투여—2.2.7 kg의 건강한 웅성토끼(백색종)를 사용하였다. 실험 48시간 전부터 토끼를 절식시켰으며, 토끼를 절식시키는 동안에는 토끼가 자신의 변을 먹지 못하도록 목에 아크릴 링을 씌웠으며 물은 자유롭게 먹을 수 있게 하였다. 2.0-2.5 kg의 토끼 귀정맥에 10 mg/ml 농도의 염산 프로프라놀롤 용액 2 mg/kg을 주사하였다. 정맥투여 후 2, 5, 15, 30분, 1, 2, 3, 4시간에 귀정맥으로부터 약 0.25 ml의 혈액을 채취하였다. 채혈 후 혈액은 2000 rpm에서 7분간 원심 분리한 후 분석 시까지 -20°C에서 냉동 보관하였다.

염산 프로프라놀롤 좌제의 투여 및 혈액채취—염산 프로프라놀롤 원말 20 mg 또는 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로로스-SDS(염산 프로프라놀롤 : 에칠셀룰로로스=1:3, 염산 프로프라놀롤 20 mg 함유)를 중공부에 봉입한 두 형태의 중공좌제를 토끼 직장에 삽입하고 항문을 테이프로 봉한 후 30분 및 1, 2, 3, 4, 6, 8시간에 귀정맥으로부터 0.25 ml의 혈액을 채취하였다. 채혈 후 혈액은 2000 rpm에서 7분간 원심분리한 후 약물의 농도 측정 전까지 -20°C에서 냉동 보관하였다. Cross over design으로 토끼는 적어도 1주일 이상의

**Table I—Three Types of PPH-PVA Hydrogel Suppositories<sup>a)</sup>**

Type	Ratio of PVA 1500:PVA 2000	Form of added PPH
Type 1 <sup>b)</sup>	0:1	PPH powder dispersed in bases
Type 2 <sup>c)</sup>	0:1 1:1 1:2 1:5	PPH powder in cavity
Type 3 <sup>d)</sup>	0:1	PPH-SDS in cavity

a) The suppositories were prepared after 1, 2, 3 and 4 times of freezing-thawing cycles, respectively.

b) Conventional suppositories

c) Hollow type suppositories

d) PPH-SDS were prepared with various ratios (1:1, 1:2, 1:3, 1:5) of PPH and EC or MC.

휴약기간을 두었으며 각 좌제를 1회씩 투여하였다.

**혈장중의 염산 프로프라놀롤 농도 측정**

혈장중의 염산 프로프라놀롤 농도는 Drummer<sup>31)</sup> 등과 인<sup>32)</sup>의 방법을 준용하여 측정하였다.

HPLC에 의한 혈장 중 염산 프로프라놀롤 농도 측정 및 약물속도론적 해석—정맥주사 및 직장투여 후의 혈장 중의 염산 프로프라놀롤의 약물속도론적 파라미터는 모델 비의존적 방법으로 구하였다. 염산 프로프라놀롤을 정맥투여 한 후 얻은 혈장 중 염산 프로프라놀롤의 농도-시간 곡선으로부터  $V_{dss}$ ,  $V_{darea}$ ,  $Cl$ ,  $AUC$ ,  $AUMC$ ,  $MRT$  및  $t_{1/2}$  등 약물속도론적 파라미터를 아래식으로 부터 구하였으며,  $C_{max}$ ,  $t_{max}$ 는 실제 측정된 농도를 이용하여 Figure 10에서 구하였다.

$$AUC = \int_0^{\infty} C_p dt + \frac{C_p^*}{\lambda_n}$$

$$AUMC = \int_0^{\infty} t \cdot C_p dt + T \cdot \frac{C_p^*}{\lambda_n} + \frac{C_p^*}{\lambda_n^2}$$

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC}$$

$$Cl = \frac{X_0}{AUC}$$

$$V_{dss} = Cl \cdot MRT$$

$$V_{darea} = \frac{X_0}{\lambda_n \cdot AUC}$$

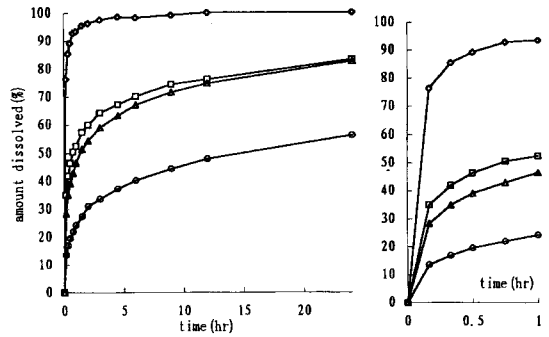
$$t_{1/2} = \frac{0.693}{\lambda_n}$$

T는 마지막 채혈 시간을,  $C_p^*$ 는 마지막 채혈시의 농도를 그리고  $\lambda_n$ 은 terminal phase의 기울기에서 구하였다. AUC 및 AUMC는 무한대 시간까지 외삽하여 trapezoidal rule로 계산하였다.

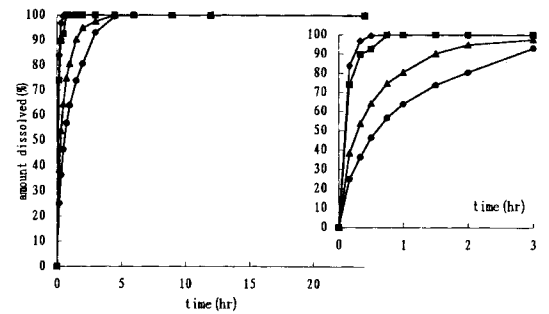
**결과 및 고찰**

**염산 프로프라놀롤-SDS 제조 및 염산 프로프라놀롤의 용출특성과 함량**

고체분산계(solid dispersion system, SDS)의 제조는 적합한 물리적인 특성을 가진 고분자를 선택하여 약물의 서방화를 가능하게 할 수 있다.<sup>24,26)</sup> 수용성 약물인 염산 프로프라놀롤의 방출제어를 목적으로 소수성 고분자인 에칠셀룰로오스 및 친수성 고분자인 메칠셀룰로오스를 담체로 하여 염산 프로프라놀롤-SDS를 제조하였다. 제조과정 중 수용성 약물인 염산 프로프라놀롤과 에칠셀룰로오스는 무수 에탄올에 잘 녹아 옅은 황색



**Figure 1**—Dissolution profiles of the PPH-EC-SDS with various ratios of PPH and EC containing 20 mg of PPH in pH 7.4 phosphate buffer solution at 37°C(left). Right curves represent dissolution profile of PPH-EC-SDS in initial period. Each value represents 3 experiments. Key:  $\diamond$ : PPH-EC-SDS (1:1),  $\square$ : PPH-EC-SDS (1:2),  $\triangle$ : PPH-EC-SDS (1:3),  $\circ$ : PPH-EC-SDS (1:5)



**Figure 2**—Dissolution profiles of the PPH-MC-SDS with various ratios of PPH and MC containing 20 mg of PPH in pH 7.4 phosphate buffer solution at 37°C(left). Right curves represent dissolution profile of PPH-MC-SDS in initial period. Each value represents 3 experiments. Key:  $\diamond$ : PPH-MC-SDS (1:1),  $\square$ : PPH-MC-SDS (1:2),  $\triangle$ : PPH-MC-SDS (1:3),  $\circ$ : PPH-MC-SDS (1:5)

빛의 투명한 점성액을 형성하였고 용매를 증발시킨 다음 실온에서 24시간 건조시킨 것을 분쇄하고 14호체를 통과하고 25호체에 남은 것을 시료로 하였다.

또, 메칠셀룰로오스를 사용한 경우, 염산 프로프라놀롤은 무수 에탄올에 투명하게 녹으나 고분자는 녹지 않고 몽글몽글한 팽윤된 현탁상태로 되었으며 수용상에서 용매를 증발시킨 후, 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS와 같이 실온에서 24시간 건조시킨 것을 분쇄기로 분쇄하여 14호체를 통과하고 25호체 위에 남은 것을 시료로 하였다.

염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS 및 염산 프로프라놀롤-메칠셀룰로오스-SDS로부터의 약물의

용출 특성을 Figure 1 및 Figure 2에 도시하였다.

염산 프로프라놀롤-메칠셀룰로오스-SDS, 염산 프로프라놀롤-메칠셀룰로오스-SDS는 각각 T50%가 20분, 1.5시간에서 burst현상이 나타남을 알 수 있었고, 메칠셀룰로오스에 있어서 염산 프로프라놀롤과 메칠셀룰로오스의 비율이 1:1, 1:2, 1:3, 1:5일 때, T80%가 각각 10, 13분, 1, 2시간으로 1:1과 1:2는 유사하고 모든 비율에 있어 4시간 내에 90% 이상이 용출되었으며 메칠셀룰로오스의 경우는 1:1, 1:2, 1:3, 1:5일 때의 T50%이 7, 45분, 1.5, 15시간으로써 1:1을 제외한 나머지 비율에서 지속적인 용출을 보였으며 1:2와 1:3에서는 큰 차이를 보이지 않았다.

에칠셀룰로오스의 경우보다 메칠셀룰로오스의 경우가 용출이 지연되었는데 이는 메칠셀룰로오스가 수용성 polymer이므로 수화되어 SDS와 용출용매 사이의 계면에 colloidal barrier가 생겨 약물용출을 제어할 수 있으나 실험온도가 37±1°C 로써 gel 형성온도인 50°C에 못미쳐 용출지연에 중요한 역할을 할 gel은 형성되지 않았기 때문으로 사료된다.<sup>33)</sup>

염산 프로프라놀롤-SDS중의 약물함량은 Table II와 Table III에 나타내었다.

**염산 프로프라놀롤-폴리비닐알코올 하이드로젤 좌제**

이<sup>20)</sup> 등은 폴리비닐알콜 하이드로젤 좌제 제조시 좌제로부터의 약물의 방출 및 직장에서의 삽입강도 등을

고려하여 18% 폴리비닐알코올 2000 하이드로젤을 중공좌제의 기제로 사용하였는데 통상형의 경우는 삽입에 문제가 없었으나 중공좌제의 경우는 삽입에 있어 강도를 증가시킬 필요성이 있었다. 따라서 중합도가 다른 폴리비닐알코올을 배합함으로써 삽입강도 및 방출증대를 계획하였다. 폴리비닐알코올 1500과 폴리비닐알코올 2000을 혼합하여 1회의 동결-융해 과정을 거쳐 폴리비닐알코올 하이드로젤을 제조하였으나 1회의 동결-융해과정만을 거쳐 조제하였을 때는 폴리비닐알코올 2000만으로 조제한 경우보다 연화되었다. 그러나 동결-융해를 반복한 결과 강도가 증가하였고 혼탁도가 증가하였다. 1회의 동결-융해 과정을 통해 제조한 폴리비닐알코올 2000 하이드로젤을 기준으로 하여 강도를 측정한 결과를 Table IV에 나타내었다. 폴리비닐알코올 2000의 비율이 증가할수록 동결-융해 과정을 4회 반복한 것이 가장 강도가 높았으므로 폴리비닐알코올 2000만으로 제조한 기체에 대해 방출실험을 실시하였다. Peppas<sup>21)</sup>은 폴리비닐알코올의 분자량 및 동결-융해 횟수를 변화시켜 실험을 실시하여 분자량 및 동결-융해 횟수가 증가하면 혼탁도도 증가하고 gel이 더욱 단단해짐을 보고하였다. 이는 본 실험결과와 일치하며 폴리비닐알코올의 분자량이 증가하고 동결-융해를 반복하면 densification과 crystallization이 증가하여 gel조직의 강도가 증가하였기 때문이라 사료된다.

**염산 프로프라놀롤-폴리비닐알코올 하이드로젤 좌제로부터의 염산 프로프라놀롤의 방출특성**

폴리비닐알코올 하이드로젤 기체의 동결-융해 횟수에 따른 방출 특성—동결-융해 과정을 4회 반복한 폴리비닐알코올 2000 하이드로젤 중공좌제 기체에 원말 20 mg을 봉입해서 제조한 직후 방출실험을 하였다 (Figure 3). 강도 실험 결과 동결-융해를 반복하면 강도가 증가하고 불투명해졌으나 방출속도 및 방출양상은 동결-융해 횟수에 무관했다. 중공좌제는 모두 lag time을 보였다. 염산 프로프라놀롤 원말을 폴리비닐알코올 2000 하이드로젤기체에 분산시킨 통상형 좌제에

**Table II—Drug Contents in PPH-EC-SDS with Various Ratios of PPH and EC**

PPH-EC-SDS	
Drug : Carrier (w/w)	Content of PPH(%)
1 : 1	47.5
1 : 2	32.4
1 : 3	23.3
1 : 5	15.8

Each value represents the 3 experiments.

**Table III—Drug Contents in PPH-MC-SDS with Various Ratios of PPH and MC**

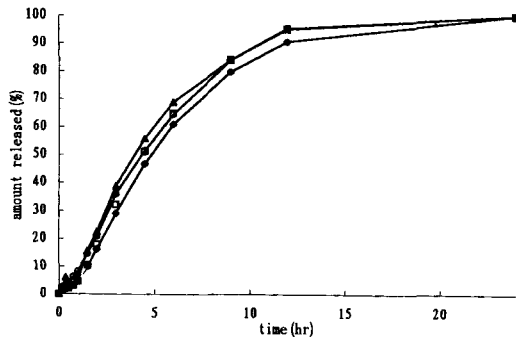
PPH-MC-SDS	
Drug : Carrier (w/w)	Content of PPH(%)
1 : 1	46.9
1 : 1	28.9
1 : 2	23.9
1 : 3	15.8

Each value represents the 3 experiments.

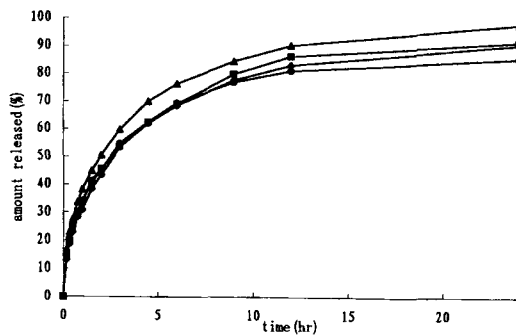
**Table IV—Relative Strength of PVA Hydrogel**

No. of freezing-thawing cycle	PVA 1500 : PVA 2000			
	1:1	1:2	1:5	0:1
1	-	0.24	0.64	1.00
2	0.18	0.91	1.44	1.91
3	0.91	1.73	2.44	2.98
4	1.44	2.26	3.12	3.96

Each value represents 3 experiments.



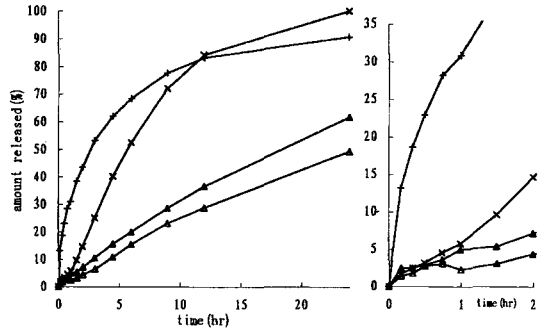
**Figure 3**—Release profiles of PPH from the hollow type suppositories containing 20 mg of PPH powder in the cavity (Type 2) in pH 7.4 phosphate buffer solution at 37°C. Each value represents 3 experiments. Key: No. of thawing cycles: ◇: once, □: twice, ○: three times, △: four times



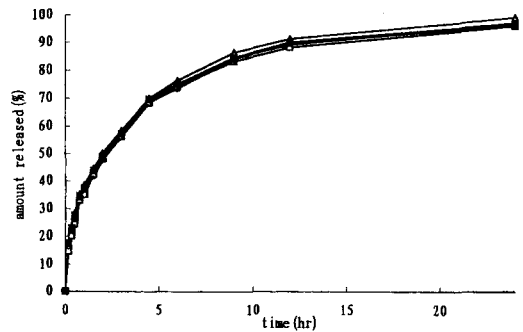
**Figure 4**—Release profiles of PPH from conventional suppositories containing 20 mg of PPH powder dispersed in the base (Type 1) in pH 7.4 phosphate buffer solution at 37°C. Each value represents 3 experiments. Key: No. of thawing cycles: ◆: once, ■: twice, ●: three times, ▲: four times

대해서 같은 실험을 실시한 결과(Figure 4), 역시 동결-융해 횟수는 약물방출에 영향을 미치지 못했다.

**담체의 종류에 따른 방출특성**—담체로 에칠셀룰로오스 및 메칠셀룰로오스를 사용하여 제조한 SDS의 용출에서 염산 프로프라놀롤: 에칠셀룰로오스가 1:3인 경우 지속적 용출을 보이면서 누적용출량도 82% 이상이었다. 그러므로 염산 프로프라놀롤과 메칠셀룰로오스 및 에칠셀룰로오스의 비율을 1:3으로 제조한 염산 프로프라놀롤-SDS를 중공부에 봉입한 중공좌제, 염산 프로프라놀롤 원말 중공좌제 및 염산 프로프라놀롤 통상형 좌제로부터의 약물방출을 비교하였다(Figure 5). 4.5시간까지의 누적방출량을 보면 통상형 좌제는 68.8%, 염산 프로프라놀롤 원말 중공좌제는 40.3%, 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS중공좌제는 10.8%, 염산 프로프라놀롤-메



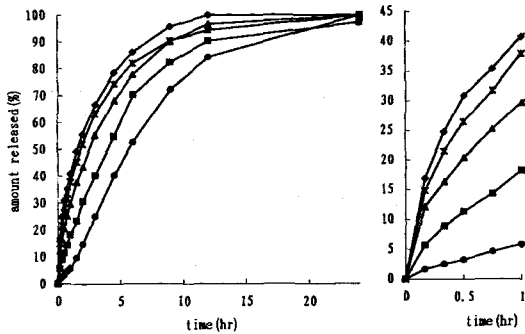
**Figure 5**—Release profiles of PPH from a conventional suppository with 20 mg PPH powder dispersed in the base and hollow type suppositories with PPH powder, PPH-EC-SDS and PPH-MC-SDS (20 mg of PPH) in the cavity, respectively, in pH 7.4 phosphate buffer solution at 37°C (left). Right curves represent release profiles of PPH from a conventional suppository and hollow type suppositories in initial period. Each value represents 3 experiments. Key: conventional suppository: +; PPH powder dispersed in the base, hollow type suppository: ×; PPH powder, △: PPH-EC-SDS (1:3); ▲: PPH-MC-SDS (1:3) in the cavity



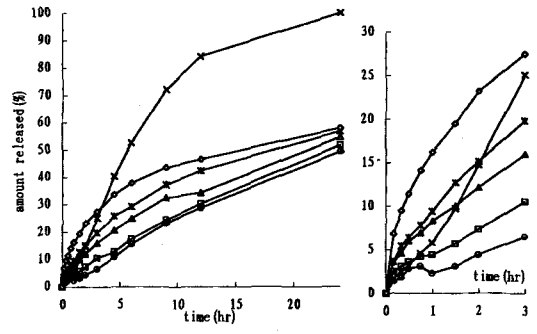
**Figure 6**—Release profiles of PPH from the conventional suppositories containing 20 mg of PPH dispersed in the base in pH 7.4 phosphate buffer solution at 37°C. Each value represents 3 experiments. Key: storage time: ○: 0 hr, □: 12 hrs, △: 24 hrs, \*: 48 hrs, ◇: 168 hrs

칠셀룰로오스-SDS중공좌제의 중공부에 SDS를 봉입한 경우 12시간까지의 방출양상은 직선성을 보이며 방출이 더욱 지연되었고 방출속도가 일정하였다.

중공부에 원말, 염산 프로프라놀롤-메칠셀룰로오스-SDS 및 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS를 봉입한 좌제를 실온에서 12, 24, 48 및 168시간의 단기간 보존한 후 방출실험을 하였다. 또 비교실험을 위하여 동결-융해를 거친 후 실온에서 24시간 방치시킨 통상형 좌제에 대해서도 같은 실험하였다. Figure 6는



**Figure 7**—Release profiles of PPH from the hollow type suppositories containing 20 mg of PPH in the cavity in pH 7.4 phosphate buffer solution at 37°C (left). Right curves represent release profiles of PPH from the hollow type suppositories in initial period. Each value represents 3 experiments. Key: storage time: ●: 0 hr, ■: 12 hrs, ▲: 24 hrs, \*: 48 hrs, ◆: 168 hrs

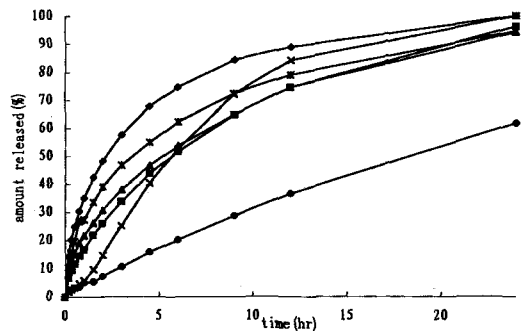


**Figure 8**—Release profiles of PPH from the hollow type suppository containing 20 mg of PPH powder or PPH-EC-SDS containing 20 mg of PPH in the cavity in pH 7.4 phosphate buffer solution at 37°C (left). Right curves represent release profiles of PPH from the hollow type suppositories in initial period. Each value represents 3 experiments. Key: PPH powder: ×: 0 hr, PPH-EC-SDS: ○: 0 hr, □: 12 hrs, △: 24 hrs, \*: 48 hrs, ◇: 168 hrs

보존기간에 따른 통상형 좌제의 방출 양상으로 보존기간의 영향을 받지 않음을 알 수 있다.

Figure 7은 원말을 봉입한 후 보존기간을 달리했을 경우이다. 약물 봉입 후 보존기간에 따른 방출실험결과를 보면 6시간까지의 누적방출량은 제조직후는 56.6%, 제조 12시간 후는 70.2%, 24시간 후는 80.2%, 48시간 후는 83.0% 및 일주일 방치 후에는 86.1%로서, 제조 후 24시간 동안 방출량은 제조 직후에 비해 1.4배 증가하였다. 즉 보존중에 수용성 약물인 염산 프로프라놀롤이 수분을 함유한 팽윤성의 하이드로젤 기제로 확산되어 보존기간이 길어질수록 초기 방출량은 많아지며, 방출양상이 통상형 좌제와 유사하다고 사료되었다. 보존기간이 48시간일 때와 168시간일 때의 각 시간에서의 누적 방출량은 유사하므로, 약 48시간 보존시 약물이 기체에 완전히 확산된다고 추정되었다.

Figure 8은 중공부에 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS를 봉입한 후 보존기간을 변화시킨 경우이다. 원말과 다르게 24시간이 지나도 전량이 방출되지 않았다. 또 6시간에서의 누적방출량은 보존기간이 0시간일 때와 12시간일 때 각각 16%와 17%로 거의 변화가 없었다. 이는 에칠셀룰로오스가 소수성 고분자로서 약물이 수분을 함유한 기체 내로 확산되는 것을 어느 정도 방지하기 때문으로 사료된다. 또 원말을 봉입한 경우는 보존기간이 24시간만 지나도 통상형과 같은 방출양상을 보이나 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS를 봉입한 경우는 168시간이 지나서야 방출양상이 통상형과 유사해지고 48시간까지는 단위시간당 약



**Figure 9**—Release profiles of PPH from the hollow type suppository containing 20 mg of PPH powder or PPH-MC-SDS containing 20 mg of PPH in cavity in pH 7.4 phosphate buffer solution at 37°C. Each value represents 3 experiments. Key: PPH powder: ×: 0 hr, PPH-MC-SDS: ●: 0 hr, ■: 12 hrs, ▲: 24 hrs, \*: 48 hrs, ◆: 168 hrs

물 방출 양이 비교적 일정하여 중공좌제 제조 직후의 방출양상을 그대로 유지하였다. 즉 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS를 봉입한 중공좌제는 원말의 경우와 비교시 제조 후 12시간 정도 냉장 보존하였을 때 방출양상 및 누적방출량의 변화는 없었으므로 수용성 약물의 경우 약물의 SDS를 이용하여 하이드로젤 중공좌제를 제조하고 임상응용시 약 12시간 정도는 보존에 따르는 방출양상의 변화는 없으리라 사료된다.

염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS를 중공부에 봉입한 경우(Figure 9) 제조 직후 방출실험 결과 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS의 경우와 유사한 방출양상을 보이지만 원말보다도 보존기간의 영향을

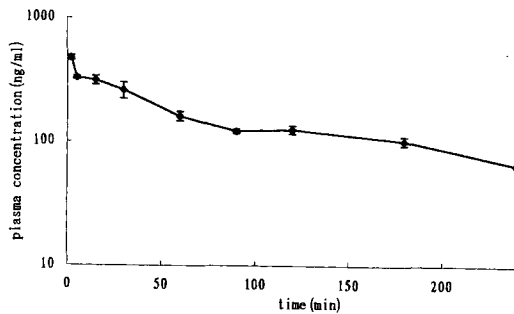


많이 받는다. 보존기간에 따른 6시간 까지의 누적 방출량은 제조 즉시 20%, 12시간 보존시는 50%, 24시간은 53%, 48시간은 62% 그리고 168시간에서는 75%로 제조 후 12시간까지 보존할 때 특히 누적 방출량의 차이가 많았으며 그 양상도 통상형과 유사한 burst효과가 나타났다. 이는 메칠셀룰로오스가 수용성 고분자이므로 제조 직후는 방출에 barrier로 작용하나 보존시 기재내의 수분을 흡수하여 수용성 약물을 기재내로 확산시키기 때문이라고 사료된다.

이상의 실험 결과 수용성 약물을 팽윤성 기재의 중공부에 봉입시 원말을 사용하면 약물의 확산이 일어나 보존기간에 따라 방출양상이 변화함을 알았다. 소수성 고분자와 약물의 SDS를 봉입하여 중공좌제를 제조하면 이러한 변화의 속도를 늦추고 제조 직후의 상태를 유지할 수 있다. 또 수용성 약물은 이상의 방법을 응용하면 수용성 약물의 원말을 봉입하고 48시간 가량 보존 후에도 방출양상이 통상형과 같아지고 더 이상의 방출량의 변화도 없고, lag time없이 통상형과 유사한 효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

**토끼 직장에서의 흡수**

*염산 프로프라놀롤 정맥주사후의 약물속도론적 파라*



**Figure 10**—Plasma concentration of PPH following a single intravenous injection of (2 mg/kg of PPH) to rabbits (n=3). Each plot represents mean ± S.D.

**Table V**—Pharmacokinetic Parameters of PPH after a Single Intravenous Injection (2 mg/kg of PPH) to Rabbits.

Parameters	Mean±S.D.
V <sub>ss</sub> (ml/kg)	19.6±6.3
V <sub>d area</sub> (ml/kg)	21.6±8.5
AUC (μg/ml/min)	872.7±53.9
AUMC (μg/ml)	3623.2±1197.7
MRT (min)	4.2±1.5
CL (ml×min/kg)	4.6±0.3
t <sub>1/2 ter</sub> (min)	3.2±1.2
AUC <sub>0-4</sub> (μg/ml/min)	560.8±150.7

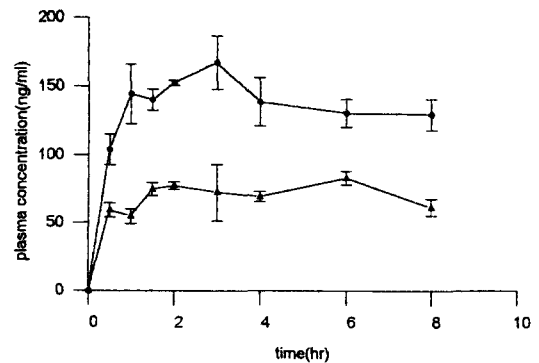
Each value represents 3 experiments.

*미터의 해석*—염산 프로프라놀롤을 토끼 귀정맥에 주사한 후의 시간 변화에 따른 혈장 중 약물 농도 (Figure 10) 및 혈장내 동태는 모델 비의존적 방법으로 분석하였다(Table V).

*염산 프로프라놀롤 폴리비닐알코올 하이드로겔 좌제의*

*토끼 흡수 실험*—염산 프로프라놀롤 원말 및 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS (염산 프로프라놀롤 : 에칠셀룰로오스=1:3)를 중공부에 봉입한 중공좌제를 토끼의 직장에 투여한 후의 혈중약물농도(Figure 11) 및 약물속도론적 파라미터(Table VI)에서 직장투여 후 염산 프로프라놀롤의 혈장내 동태는 모델 비의존적인 방법으로 해석되었다. Table VI에서 염산 프로프라놀롤 원말을 봉입한 중공좌제는 C<sub>max</sub>가 196.37 ng/ml, t<sub>max</sub>는 140분이었고 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS(1:3)봉입중공좌제는 C<sub>max</sub>가 91.30 ng/ml이고 t<sub>max</sub>는 150분이었으며 8시간까지의 혈중농도가 비교적 일정하게 지속됨을 볼 수 있었다. 이 결과는 in vitro 방출시험결과(Figure 5)와 유사하였다.

염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS(1:3) 중공좌제는 0차 반응으로 방출되었고 보존기간의 영향도



**Figure 11**—Plasma concentration of PPH after a single rectal administration of hollow type suppository containing 20 mg of PPH powder (●) and PPH-EC-SDS containing 20 mg PPH (▲) in the cavity (n=3). Each plot represents mean ± S.D.

**Table VI**—Pharmacokinetic Parameters after a Single Rectal Administration of PPH Powder and PPH-EC-SDS (1:3) Hollow Type Suppositories (with 20 mg of PPH) in Rabbits.

	PPH	PPH-EC-SDS (1:3)
C <sub>max</sub> (ng/ml)	196.37± 5.63	91.30±14.14
t <sub>max</sub> (min)	139.99±34.64	150.00±42.43
AUC <sub>0-8</sub> (ng/ml/min)	1105.26	554.69
MRT (min)	8.66	235.99

Each value represents mean±S.D. (n=3).

비교적 적게 받았으며, 유효혈중농도(50-100 ng/ml)를 지속적으로 유지하였으므로, 수용성 약물을 팽윤성 기체에 loading할 때 유용한 제형으로 추정된다. 그러므로 중공좌제는 약물의 봉입 형태에 따라 약물의 방출 및 흡수의 제어를 가능하게 하는 제형으로 실제 이용가능하다고 사료된다(Figure 11).

## 결 론

1. 폴리비닐알코올을 좌제 기체로 사용할 경우, 폴리비닐알코올 2000의 비율이 높고 동결-융해를 반복할수록 폴리비닐알코올 하이드로젤 기체의 강도는 커졌으나 방출양상 및 방출량에는 변화가 없었다.
2. 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS를 봉입한 중공좌제로부터의 약물 방출양상 및 누적방출량은 제조직후와 12시간까지 보존하였을 때 큰 차이를 나타내지 않았다.
3. 염산 프로프라놀롤-에칠셀룰로오스-SDS(염산 프로프라놀롤 : 에칠셀룰로오스 = 1:3, 염산 프로프라놀롤 20 mg함유)봉입 중공좌제는 토끼 직장흡수실험시 유효혈중농도범위 (50-100 ng/ml)에서 지속적이었다.

## 문 헌

- 1) 村西昌三, 坐劑, 南山堂, 東京, 5 (1985).
- 2) 이민화, 구영순 공저, 생물약제학과 약물속도론, 45 (1985).
- 3) T. Nakajima, Y. Takashima, K. Iida, H. Mitsu-ta and M. Koishi, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1201 (1987).
- 4) T. Umeda, A. Matsuzawa, T. Yokoyama and K. Kuroda, *ibid.*, **31**, 2793 (1983).
- 5) T. Nakajima, Y. Takashima, A. Furuya, Y. Oz-awa and Y. Kawashima, *ibid.*, **36**, 3696 (1988).
- 6) T. Nakajima, Y. Takashima, A. Furuya, Y. Ozawa, Y. Kawashima, *ibid.*, **37**, 3145 (1989).
- 7) S. Kawashima, N. Nishiura, T. Noguchi and H. Fujiwara, *ibid.*, **37**, 766 (1989).
- 8) S. Kawashima, M. Sugimura, T. Noguchi and H. Fujiwara, *ibid.*, **37**, 1899 (1980).
- 9) S. Kawashima, Y. Inoue, T. Shimeno and H. Fujiwara, *ibid.*, **38**, 498 (1990).
- 10) K. Morimoto, A. Nagayasi, S. Fukanoki, K. Morisaka, S. Hyon and Y. Ikada, *Pharm. Res.*, **6**, 338 (1989).
- 11) K. Morimoto, S. Fukanoki, K. Morisaka, S. H. Hyon. and Y. Ikada, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2491 (1989).
- 12) B. Gande, *Pharm. Res.*, **6**, 578 (1989).
- 13) F. Urushizaki, *Int. J. Pharm.*, **58**, 135 (1990).
- 14) F. Urushizaki, H. Yamaguchi and H. Mizu-machi, *Yakugaku Zasshi*, **106**, 491 (1986).
- 15) E.H. Bodde, E.A.C. van Alten and W.E. Jung-inger, *J. Pharm. Pharmacol.*, **41**, 152 (1989).
- 16) S.W. Kim, *Pharm. Int.*, **90** (1983).
- 17) N.A. Peppas and J.E. Scott, *J. of Controlled Release*, **18**, 95 (1992).
- 18) A. Takasura, *Yakugaku Zasshi*, **107**, 233 (1987).
- 19) A. Takamura, F. Ishii and H. Hidaka, *J. of Controlled Release*, **20**, 21 (1992).
- 20) Y. Watanabe and M. Matsumoto, *Yakugaku Zasshi*, **104**, 479 (1984).
- 21) J.Y. Rhie and Y.S. Ku, *Kor. Res. Inst. Better Living*, **49**, 145 (1992).
- 22) S.J. Kim, *Kor. Res. Inst. Better Living*, **52**, 191 (1993).
- 23) J.B. Schwartz and T.P. Alvimo, *J. Pharm. Sci.*, **65**, 572 (1976).
- 24) H. Yussa, T. Ozeki, Y. Kanaya, K. Onishi and T. Oyake, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3492 (1986).
- 25) H. Yussa, T. Ozeki, Y. Kanaya, K. Onishi, *ibid.*, **40**, 1592 (1992).
- 26) H. Yussa, T. Ozeki, Y. Kanaya and K. On-ishi, *ibid.*, **41**, 933 (1993).
- 27) H.D. Graham, Y.M. Baker and A.N. Njoku-Obi, *J. Pharm. Sci.*, **52**, 192 (1963).
- 28) *Drug Information*, 841 (1988).
- 29) Martindale-The Extra Pharmacopeia 29th, pp.798 (1989).
- 30) W.L. Chiou, S. Riegelman, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1281 (1971).
- 31) O.H. Drummer, J. McNeil, E. Pritchard, W.J. Louis, *J. Pharm. Sci.*, **70**, 1030 (1981).
- 32) 안병락, 서울대학교 대학원 1993학년도 박사학위 청구논문.
- 33) N.N. Salib, M.E. El-Menshawy and A.A. Is-mail, *Pharm. Ind.*, 38(Nr), 6 (1976).