

## SMEDDS를 이용한 난용성 약물의 용출을 향상

김계현 · 이윤석 · 배준호 · 지상철 · 박은석†

성균관대학교 약학대학  
(1999년 2월 8일 접수)

### Improvement of Dissolution Rate of Poorly Water Soluble Drug Using Self-microemulsifying Drug Delivery System

Kye-Hyun Kim, Yun-Seok Rhee, Joon-Ho Bae, Sang-Cheol Chi and Eun-Seok Park†

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

(Received February 8, 1999)

**ABSTRACT**—A self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) was developed to enhance the solubility and dissolution rate of poorly water soluble drug, biphenyl dimethyl dicarboxylate, DDB. The system was optimized by evaluating the solubility of DDB and the microemulsion existence range after the preparation of microemulsions with varying compositions of triacetin and surfactant-cosurfactant mixtures (Labrasol as surfactant (S) and the combination of Transcutol, Cremophor RH 40 and Plurol oleique as cosurfactant (CoS)). SMEDDS in this study markedly improved the solubility of DDB in water up to 10 mg/ml and the size of the o/w microemulsion droplets measured by dynamic light scattering showed a narrow monodisperse size distribution with an average diameter less than 50 nm. The microemulsion existing range is increased proportional to the ratio of S/CoS, however, it decreased remarkably as the oil content was more than 20%. *In vitro* dissolution study of SMEDDS showed a significantly increased dissolution rate of DDB in water (>12 fold over DDB powder), and SMEDDS also had significantly greater permeability of DDB in Caco-2 cell compared to powders.

**Keywords**—Self-microemulsifying drug delivery system, Microemulsions, Dissolution, Solubility, Caco-2 cell, Membrane permeability

물에 난용성인 약물은 경구투여시 소화액에서의 낮은 용출율로 인하여 그 생체이용률이 낮아지는 문제가 자주 지적되어왔다.<sup>1)</sup> 따라서 약물의 용해도 및 용출을 향상시키기 위한 공용매 및 계면활성제의 사용, 복합체 및 고체분산체 형성, 염이나 유도체 형성 등의 다양한 방법들이 시도되었다.<sup>2-4)</sup> 마이크로에멀전(microemulsion)은 난용성 약물의 가용화와 생체이용률의 개선을 위한 효과적인 수단으로 수상(물), 유상(오일), 계면활성제 및 보조계면활성제로 이루어져 극성 또는 비극성 용매에 난용성인 약물의 가용화와 용출의 향상을 위한 수단으로 응용될 수 있다.<sup>5-8)</sup> 또한 유적의 평균 크기가 50 nm이하로 작기 때문에 광학적으로 투명하며 열역학적으로 안정하여 상분리나 합일이 쉽게 일어나지 않고 많은 기계적인 에너지가 들어가는 유제와 달리 적은 힘만으로도 짧은 시간 안에 자발적으로 형성된다는 장점을 가지고 있다.<sup>9,10)</sup> 마이크로에멀전 시스템은 분무제, 젤제, 경질캡셀제 및 연질캡셀제 등의 다양한 제형으로 사용할 수 있지만 구성 성분중에 수상

(물)을 함유하기 때문에 연질캡셀에 충전하기 어렵고 대부분 부피감이 있어 취급이 용이하지 않다는 문제점이 있다. SMEDDS(self-microemulsifying drug delivery systems)는 마이크로에멀전의 구성 성분중 수상이 제거된 액체 또는 고체 상태의 균일한 혼합물로서 복용시 체액과 같은 수상을 만나면 위장관 운동 등과 같은 약한 힘에 의해서도 쉽게 마이크로에멀전을 형성하는 약물전달시스템을 말한다.<sup>11-13)</sup> 또한 SMEDDS는 마이크로에멀전과는 다르게 구성 성분중에 수상(물)이 배제되었기 때문에 부피를 줄일 수 있고 가수분해 등에 의한 약물의 변화도 방지할 수 있으며 캡셀충과 물과의 상호작용을 배제할 수 있어 연질캡셀에 충전이 가능하여 산화에 의한 약물의 변화 방지와 복용의 편리성을 도모할 수 있다. SMEDDS는 유상(오일), 계면활성제 및 보조계면활성제로 이루어진 self-microemulsifying 기체(base)가 유상과 수상사이에 넓은 분배계면을 형성하기 때문에 일반 유제에 반하여 매우 안정하며 기체의 적절한 조성에 따라 약물의 용해도 및 생체이용률을 크게 증가시킬 수 있으며<sup>14,15)</sup> 약물의 안정성의 확보, 신속한 약효의 발현, 함량의 균일성과 이에 따른 고른 약효의 발현 및 취급의 편리성 등을 제공할 수 있

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
T: 0331)290-7715, E-mail: espark@yurim.skku.ac.kr

어 이러한 문제점으로 인하여 그 사용이 제한되었던 약물들의 효율적인 사용을 증대시킬 수 있는 유용한 수단으로 많이 인식되고 있다.

본 연구에서는 물에 난용성 약물로서 경구투여시 생체이용률이 20~30% 정도인 비페닐디메틸디카르복실레이트(DDB)를 모델 약물로 설정하여 이 약물의 용해도와 소화관내에서의 용출율의 향상을 목적으로 SMEDDS를 설계 하였다. 또한 SMEDDS 제제화에 의한 용출율의 향상이 DDB의 장관막 흡수에 미치는 영향을 보고자 Caco-2 세포단막층을 모델로 사용하여 SMEDDS의 DDB 장관막 흡수를 미분화분말 포화용액을 대조군으로 하여 비교시험 하였다.

## 실험방법

### 재료 및 기기

시약으로는 glyceryl triacetate(트리아세틴), 콩기름, 옥수수기름, 참기름, 면실유, 홍화유, 간유(Sigma Chemical Co., U.S.A), 리놀레닌산(Fluka Chemical Co., Switzerland), 올레인산, 폴리에틸렌글리콜 300(PEG 300), PEG 400(Junsei Chemical Co., Japan), PEG-6 glyceryl monooleate(Labrafil M 1944), PEG-6 glyceryl linoleate(Labrafil M 2125), PEG-8 glyceryl linoleate(Labrafil WL 2609), propylene glycol laurate(Lauroglycol), caprylic/capric triglyceride(Labrafac lipophile), caprylic/capric triglyceride PEG-6 ester(Labrafac hydro), diethylene glycol monoethyl ether(Transcutol), PEG-8 glycol carprylate(Labrasol), polyglyceryl-6 dioleate(Plurol oleique) (Gattefosse Co., France), 폴록사머 188, 폴록사머 407, Cremophor RH 40(BASF Wyandotte Co., Germany) 및 HPLC용 아세토니트릴(Mallinckrodt Chemicals Co., USA)을 사용하였다. Caco-2 세포를 이용한 장관막 흡수시험에는  $^{14}\text{C}$ -만니톨, N-2-hydroxyethylpiperazine-N-ethanesulfonic acid (HEPES), rat-tail collagen(Sigma Chemical Co., U.S.A.), Dulbecco's modified Eagle Medium(DMEM), fetal bovine serum (FBS), nonessential amino acids(NEAA), L-glutamine, trypsin(0.25%), EDTA(0.2%), penicillin-streptomycin solution (Gibco laboratories, U.S.A.)을 사용하였다. DDB는 한일약품공업(주)에서 제공받아 사용하였으며, 물은 실험실에서 제조한 역삼투수를 여과하여 사용하였다.

### DDB의 정량

DDB의 정량에는 HPLC를 사용하였다. 사용한 HPLC 시스템은 등속펌프(Hitachi, Model L-6000), 수동주입기(Rheodyne, Model 7125), UV/Vis 검출기(Hitachi, Model

L-4000), 적분계(Hitachi, Model D-2500)로 이루어졌으며 컬럼은 Cosmosil C<sub>18</sub> column(4.6×150 mm, Nacalai Tesque, Japan)을, 이동상은 50% 아세토니트릴을 사용하였으며 유속은 1.0 ml/min, 분석파장은 278 nm이었다.

DDB 표준용액의 제조는 DDB 10 mg을 정밀하게 칭량하여 아세토니트릴 10 ml에 녹인 후 이동상을 사용하여 0.1, 0.3, 1, 3, 10 µg/ml로 희석하여 사용 직전에 제조하여 사용하였다.

### 오일 및 계면활성제의 검색

SMEDDS를 제조하기 위해서는 구성 성분인 오일 및 계면활성제가 대상약물인 DDB를 일정 양 녹일 수 있어야 하므로 다양한 오일과 계면활성제를 대상으로 DDB에 대한 용해도를 평가하였다. 즉 여러조성의 오일과 계면활성제에 중량비로 1%에 해당하는 DDB 분말을 가하여 Vortex mixing을 하고 약 5분씩 sonication조작을 거친 후 육안으로 관찰하여 DDB가 녹는 정도를 살펴보았다. 여기서 비교적 DDB의 용해도가 좋았던 오일과 계면활성제를 선택하여 용해도 시험에 사용하였다.

### 용해도 시험

검색 작업을 통하여 선정된 오일과 계면활성제에 대한 DDB의 용해도를 측정하기 위하여 오일 및 계면활성제 각각 5 ml에 과량의 DDB 분말을 가한 뒤 20±1°C로 온도를 일정하게 유지한 항온양복진탕기(기우화학, Model KWSK-400)에서 100 rpm으로 48시간 동안 진탕하였다. DDB 현탁액을 1,500 rpm에서 원심분리(비전과학, VS-5000)한 뒤 상등액을 취하여 멤브레인 필터(Nylon Acrodisc® 13, 0.45 µm, Gelman, U.S.A)로 여과하였다. 여과액을 일정량 취한 후 이동상을 사용하여 적당한 농도로 희석한 뒤 HPLC로 분석하여 각 기제들에 대한 DDB 용해도를 측정하였다.

### SMEDDS 처방화와 상평형도 작성

SMEDDS의 초기 처방은 시판되는 DDB 고체분산체를 함유하는 캡셀제와 동일한 함량인 1%(w/w), 즉 전체 중량이 3 g인 SMEDDS중에 30 mg의 DDB가 함유되도록 설정하였다.

SMEDDS의 효율성은 두가지 인자에 의하여 나타낼 수 있는데 하나는 수상과 접촉시 마이크로에멀전을 형성하는 능력(형성속도 및 형성범위)이고 다른 하나는 유적의 약물을 수상으로 빠르게 방출할 수 있도록 적당한 극성(polarity)을 갖는 유적을 형성하는 능력이다. 본 실험에서는 유상, 계면활성제 및 보조계면활성제의 비율이 서로 다른 처방에 따라 제

**Table I**— Compositions of SMEDDS with Varying Amounts of Oil (triacetin) and Four Different Surfactant-cosurfactant Mixtures (S/CoS). Each SMEDDS (Total weight 3 g) contains 1% (w/w) of DDB

No.	Triacetin (g)	S/CoS	S/Cos mixture (g)
1	0.15 ( 5%)	1/2	2.82 (94%)
2	0.30 (10%)		2.67 (89%)
3	0.60 (20%)		2.37 (79%)
4	0.90 (30%)		2.07 (69%)
5	1.20 (40%)		1.77 (59%)
6	2.10 (70%)		0.87 (29%)
7	0.15 ( 5%)	1/3	2.82 (94%)
8	0.30 (10%)		2.67 (89%)
9	0.60 (20%)		2.37 (79%)
10	0.90 (30%)		2.07 (69%)
11	1.20 (40%)		1.77 (59%)
12	2.10 (70%)		0.87 (29%)
13	0.15 ( 5%)	1/4	2.82 (94%)
14	0.30 (10%)		2.67 (89%)
15	0.60 (20%)		2.37 (79%)
16	0.90 (30%)		2.07 (69%)
17	1.20 (40%)		1.77 (59%)
18	2.10 (70%)		0.87 (29%)
19	0.15 ( 5%)	1/5	2.82 (94%)
20	0.30 (10%)		2.67 (89%)
21	0.60 (20%)		2.37 (79%)
22	0.90 (30%)		2.07 (69%)
23	1.20 (40%)		1.77 (59%)
24	2.10 (70%)		0.87 (29%)

S = Labrasol, CoS = Transcutol with 5%(w/w) Cremophor RH 40 and 5.67%(w/w) Plurol oleique

조한 self-microemulsifying 기제가 수상과 접촉시 상평형도 상에 나타내는 수중유형(o/w) 마이크로에멀전 형성범위가 가장 넓은 것을 최적 조성의 처방으로 하였다. 오일 및 계면활성제들을 선택한 뒤, 오일의 함량과 계면활성제/보조계면활성제의 비율(이하 S/CoS)을 바꾸어 가면서 다양한 처방의 self-microemulsifying 기제를 제조하였다. S/CoS는 1/2, 1/3, 1/4, 1/5로, 오일의 함량을 5, 10, 20, 30, 40, 70%(w/w)로 변화시켜 self-microemulsifying 기제를 제조한 후 여기에 DDB분말을 1% (w/w) 가하고 vortex mixing과 sonication 조작을 가하여 DDB를 완전히 용해시켜 최종적으로 24개 처방의 SMEDDS를 제조하였다. Table I은 오일 및 4종의 계면활성제/보조계면활성제를 갖는 SMEDDS의 조성을 나타내었다.

수상(물)의 첨가에 따른 SMEDDS의 마이크로에멀전 형성 범위는 오일-계면활성제/보조계면활성제-물의 3성분계 상평형도를 작성하여 비교하였다. 상평형도는 각 처방에 따라 제조한 SMEDDS를 전자저울 위에 올려놓고 물을 소량씩 적가하고 잘 혼합한 뒤 혼탁도의 변화를 관찰함으로써 작성하였다. 즉 SMEDDS에 계속 물을 적가하면서 혼탁도의 변화가

나타나는 시점들에서 가해진 물의 양을 기록하고 전체량중 각 구성성분(오일, 계면활성제/보조계면활성제의 혼합물 및 물)의 비율을 표시하여 각 SMEDDS의 3성분계 상평형도를 작성하였다.

#### 마이크로에멀전 확인시험

제조한 SMEDDS가 수상과 만날 때 형성하는 마이크로에멀전의 형성 여부는 그 투명도를 육안으로 관찰하였고 마이크로에멀전의 수중유형 여부는 수용성 염료인 methylene blue를 사용한 색소법(dye solubility method)을 이용하여 확인하였다. 유적의 균일성과 크기 분포 및 SMEDDS중의 DDB의 함량을 다음과 같이 확인하였다.

**유적(Droplet) 크기 및 분포 측정**— 물과 접촉하여 생성되는 마이크로에멀전 유적의 크기는 He-Ne laser(Lexel Laser Inc., Model 127, U.S.A.)를 사용한 dynamic light scattering 법을 사용하여 측정하였으며, Transmission Electron Micrograph (TEM, Jeol 1220, Japan)를 사용하여 형성된 유적의 분포를 관찰하였다.

**DDB 함량**— 제조한 SMEDDS 시료를 HPLC 이동상으로 1,000배 희석한 후 HPLC로 분석하였다.

**점성도 측정**— SMEDDS액의 점도는 Brookfield 점도계 (Model LVDV-II+, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., U.S.A.)를 사용하여 각각 25°C 및 37°C에서 측정하였다.

#### 용출실험

제조한 SMEDDS로부터의 용출을 시판되는 캡셀제(디디비 캡셀, 코러스제약, 제조번호: C44044), 정제(닛셀정, 태림제약, 제조번호: 5107736) 및 미분화한 분말(1~10 μm)의 경우와 비교하였다. DDB 분말의 미분화에는 Z mill(Fluid energy aljet, Model 00 Z-5 mizer)을 사용하였다.

용출실험은 대한약전 용출시험법 제 2법(paddle 법)에 따라 시행하였으며 용출액은 900 ml의 증류수, 인공위액(pH 1.2) 및 인공장액(pH 6.8)을 각각 사용하였고 용출액의 온도는 37±0.5°C, paddle의 회전속도는 100 rpm으로 하였다. 시료를 용출액에 가한 후 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300 및 360분에 용출액 0.5 ml씩을 취하고, 미리 37±0.5°C로 온도를 일정하게 유지한 동량의 신선한 용출액을 보충 하였다. SMEDDS의 경우는 용출용기내에 molecular weight cutoff(MWCO)가 12,000인 투석막(Spectrapor/Por 3 membrane; Spectrum, U.S.A.)으로 제조한 bag을 장착하여 이 안에 SMEDDS 검체를 넣고 bag 밖의 용출액을 시료로 취하여 분석하였다.

### 물리적 안정성 평가

SMEDDS 제제의 물리적 안정성을 평가하기 위하여 시료를 제조 즉시 밀봉하여 공기를 차단시킨 뒤 10주 동안 상온에서 보관하면서 일정한 시간 간격으로 침전의 생성 여부, 상분리, 혼탁도의 변화, 색의 변화 등을 흑색 배경하에서 육안으로 관찰하였다.

### Caco-2 세포를 이용한 장관막 흡수시험

DDB의 장관막 흡수에 대한 SMEDDS의 효과를 평가하기 위하여 Caco-2 세포의 단막층(monolayer)을 장관막 모델로 사용하고 DDB분말을 대조군으로 하여 SMEDDS의 장관막 흡수시험을 실시하였다.

세포 - Caco-2 세포는 서울대학교 약학대학 약제학실에서 분양받아 사용하였다. 세포들은 10% FSB, 1% NEAA, 벤질페니실린(100 U/ml) 및 스트렙토마이신(10 mg/ml)을 함유하고 있는 Dubelcco's modified Eagle Medium(DMEM)에서 배양하였으며 passage number가 50~80인 것을 실험에 사용하였다. 배양중 배지는 매 2일마다 새로운 것으로 교체해 주었다.

Caco-2 세포 단막층의 Integrity - 세포단막층의 integrity는  $^{14}\text{C}$ -만니톨의 % leakage를 다음의 식 (1)로 평가하여 0.4 %/hr/cm<sup>2</sup> 이하의 막흡수속도를 나타내는 세포단막층 만을 흡수시험에 사용하였다.<sup>16)</sup> 이때 apical side의  $^{14}\text{C}$ -만니톨 용액의 방사능 수준(radioactivity level)은 0.5  $\mu\text{Ci/ml}$ 이었다.

$$\% \text{ Leakage} = \frac{\text{Receptor side radioactivity}}{\text{Donor side radioactivity}} \times \frac{1}{\text{hr} \times A} \times 100 \quad (1)$$

단, A는 세포단막층의 표면적(1.131 cm<sup>2</sup>)이다.

시료의 제조 - 흡수시험에는 두 개의 서로다른 DDB 농도를 갖는 SMEDDS 용액을 시료로, DDB 분말 포화용액을 대조군으로 사용하였다. SMEDDS 시료들은 DDB를 10 mg/ml 함유하는 SMEDDS액(트리아세틴 10%, S/CoS=1/2)을 흡수시험의 용매(transport media)로 희석시켜 각각 2  $\mu\text{g/ml}$  및 10  $\mu\text{g/ml}$  농도가 되도록 제조하였으며 DDB 포화용액(2  $\mu\text{g/ml}$ )은 과량의 DDB 미분화 분말을 transport media에 넣고 48시간 진탕하여 포화시킨 후 이를 여과하여 제조하였다. 이때 transport media(pH 7.4)는 Hank's balanced salt solution (HBSS, Amresco, U.S.A.) 1L중에 sodium bicarbonate 0.35 g, HEPES 2.38 g, glucose 1.95 g이 함유되도록 제조하여 사용하였다.<sup>17)</sup> DDB의 막투과에 미치는 제형간의 차이는 농도

(2  $\mu\text{g/ml}$ )가 동일한 SMEDDS시료와 DDB 포화용액을, 농도차이의 영향은 농도가 서로다른 SMEDDS 시료들의 Caco-2 세포단막층 흡수를 비교하여 평가하고자 하였다.

Caco-2 세포단막층 흡수시험 - 흡수시험은 Costar Snapwell<sup>TM</sup> cell culture insert와 Vertical Diffusion Chamber System(Corning Coostar Co., Cambridge, U.S.A.)을 이용하여 37°C에서 수행하였다.<sup>18,19)</sup> Caco-2 세포는 rat-tail collagen을 도포한 polycarbonate 막(0.4  $\mu\text{m}$ , 12 mm)을 장착한 Snapwell<sup>TM</sup> filter에 seeding한 후 단막층의 integrity를 확인하고 흡수시험장치의 막으로 사용하였다. 흡수시험은 단막층의 apical side에는 위에서 제조한 각각의 시료 10 ml/씩, basolateral side에는 transport media 10 ml를 채워넣었다. Apical 및 basolateral side는 5% CO<sub>2</sub>를 함유하는 O<sub>2</sub>를 20~30 psi의 압력으로 air manifold에 연결하여 순환시켰다. 분석용 시료는 일정한 시간 간격으로 basolateral side에서 200  $\mu\text{l}$ 씩 취하고 여기에 함유된 DDB의 양을 HPLC로 정량하여 시간에 따른 DDB의 흡수량을 측정하였으며 시료 채취후에는 동량의 신선한 transport media를 즉시 보충하였다. 모든 시험은 6회씩 실시하였다. Apical-to-basolateral apparent permeability coefficient(P<sub>app</sub>)는 다음의 식 (2)에 의하여 구하였다:

$$P_{app} = \frac{\Delta Q}{\Delta t \times A \times C_0} \quad (\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}) \quad (2)$$

단,  $\Delta Q/\Delta t$ 는 약물의 흡수속도( $\mu\text{g/min}$ ), C<sub>0</sub>는 apical side의 초기농도( $\mu\text{g/ml}$ ), A는 Caco-2 단막층의 표면적(1.131 cm<sup>2</sup>)이다.

### 통계처리

각 처방으로부터의 약물의 용출율의 차이는 Student의 paired t-test를 이용하여 95% 유의수준에서 통계처리를 하여 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 오일 및 계면활성제의 검색

SMEDDS에 쓰이는 오일과 계면활성제는 대상약물에 대해 어느 정도의 용해능력이 있어야 한다. 상온에서 측정된 각 오일과 계면활성제에 대한 DDB의 용해도를 Table II에 나타내었다. DDB는 물에도 난용성이지만 다수의 오일에도 매우 난용성이었다. 식물성 기름들은 polyglycolized glyceride (Labrafil 류, Lauroglycol)와 triglyceride 류(트리아세틴, Labrafac 류)와 비교해 보았을 때, DDB의 용해도가 매우

**Table II**— Solubility of DDB in Various Oils and Surfactants at Room Temperature

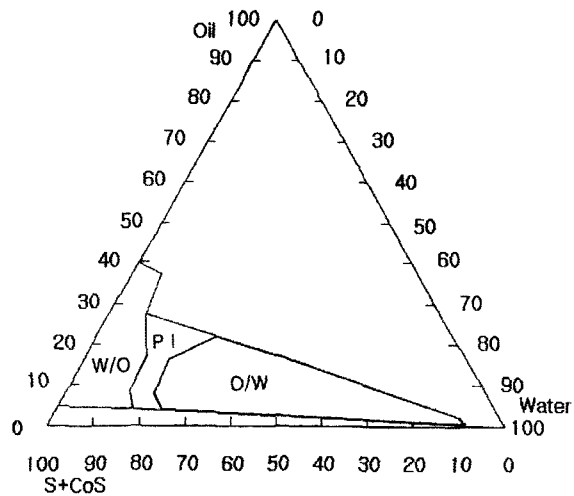
Solvents	Solubility* (mg/ml)
Triacetin	14.96 ± 0.71
Transcutol	10.87 ± 0.22
Labrasol	8.47 ± 0.09
Labrafac hydro	1.92 ± 0.06
Labrafac lipophile	0.83 ± 0.01
Labrafil M 1944	0.79 ± 0.01
Labrafil M 2125	0.72 ± 0.01
Lauroglycol	0.45 ± 0.01

\*Each value represents the mean ± SD (n=3)

낮아서 가했던 DDB 대부분이 녹지않고 남아 있었으며 검색한 오일들 중에서는 트리아세틴만이 가한 DDB를 완전히 녹일 수 있어 DDB를 SMEDDS로 제조하는데 적합하였다. 실제로 DDB의 용해능력이 작은 오일들을 사용하여 제조한 SMEDDS 제제는 제조 후 방치하면 녹았던 DDB가 재결정되어 석출하는 문제점이 발생하였다. 따라서 트리아세틴을 SMEDDS 처방의 오일로 선정하여 사용하였다. 계면활성제 중에서는 Labrasol 및 기타 용제로서는 Transcutol이 좋은 용해도를 나타냈다.

**SMEDDS 처방화와 상평형도 작성**

기제의 선정과정을 통하여 본 연구에서는 트리아세틴을 오일로 고정하고 계면활성제는 HLB가 14로서 수중유형 마이크로에멀전 처방에 적합한 Labrasol을, 보조계면활성제는 Transcutol과 DDB에 대한 용해도가 높은 비이온성 계면활성제인 Cremophor RH 40<sup>20)</sup>과 Plurol oleique를 혼합하여 사용하기로 결정하고, 오일의 백분율과 S/CoS을 변화시켜 가며 다양한 처방의 SMEDDS를 제조하였다. Transcutol과 더불어 보조계면활성제로 쓰인 Cremophor RH 40과 Plurol oleique는 전체 처방중 차지하는 함량은 적으나 전상(phase inversion)후 수중유형 마이크로에멀전이 형성될 때까지 가해지는 물의 양을 줄어들게 하는 역할을 하여 결과적으로 마이크로에멀전 형성영역을 넓히는 역할을 하였다. Table I에 따라 조성비율을 변화시켜가면서 상평형도를 작성한 결과 트리아세틴(오일)의 함량이 5%~20%까지는 각 형성영역의 차이가 그다지 크지 않았으나 30%에서는 수중유형 마이크로에멀전 형성영역이 급격히 감소하였으며 트리아세틴의 함량이 40%이상인 처방에서는 수중유형 마이크로에멀전이 형성되지 않았다. 트리아세틴의 함량이 5%~20%의 범위에서는 S/CoS의 값이 커짐에 따라 수중유형 마이크로에멀전 형성영역이 증가하는 경향을 보였다. Figure 1은 S/CoS의 비율이 1/2일 때의 상평형도로서 실험처방 중에서 가장 넓은 수중유형 마



**Figure 1**—Pseudo-ternary phase diagram composed of oil (triacetin), water and surfactant-cosurfactant mixture (S/CoS=1/2). SMEDDS contains 1% (w/w) of DDB. Key : w/o ; water-in-oil microemulsion, PI ; phase inversion, o/w ; oil-in-water microemulsion.

이크로에멀전 형성영역을 보여주었다.

**마이크로에멀전 확인시험**

제조한 SMEDDS는 물을 가하기 전에는 연한 황색의 투명한 액체상태이며 물을 가하면 수중유형 마이크로에멀전 생성범위내에서는 투명한 마이크로에멀전을 형성하였다. 여기에 수용성 염료인 methylene blue를 소량 가했을 때 연속상인 수상에 녹아 균일하게 분포되었으며 따라서 마이크로에멀전이 수중유형임을 확인할 수 있었다.

**유적의 크기 및 분포 측정** - 물과 접촉하여 생성되는 수중유형 마이크로에멀전 유적의 크기를 측정하여 평균 크기 및 크기의 분포를 평가하여 Figure 2에 나타내었는데 유적의 평균 크기는 12 nm이었으며 그 범위는 8~20 nm로서 50 nm이하 크기의 유적을 함유하는 마이크로에멀전이 형성되었음을 확인할 수 있었다. Figure 3은 유적의 TEM 사진인데 비교적 균일한 크기의 유적이 균등하게 분포되어 있으며 그 크기는 대부분 50 nm이하로 나타났다.

**DDB 함량** - DDB를 함유하고 있는 SMEDDS 제제에 대한 함량 실험은 HPLC를 통해 분석한 뒤, DDB 표준용액과의 비율을 구하여 함량을 구하였다. SMEDDS 제제 내에 들어 있는 DDB의 함량은 이론치의 98% 이상이 함유되어 있음을 확인하였다. 이는 SMEDDS 형태로 m/당 10 mg이상의 DDB를 함유하고 있는 것으로서 수상과 접촉하여 최소한 10 mg/ml 이상의 용해도를 갖는 안정한 수중유형의 마이크로에멀전을 얻을 수 있음을 의미한다. 그러므로 본 처방의 SMEDDS는 DDB의 연질캡셀제 개발에 응용될 수 있으

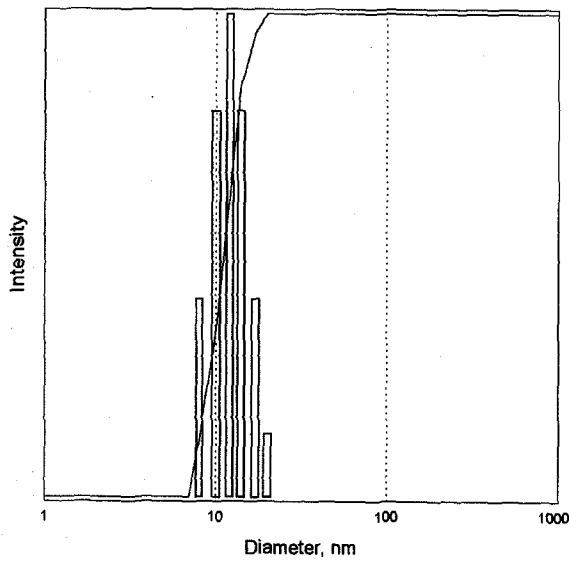


Figure 2—Size distribution of oil phase in DDB microemulsion measured by dynamic light scattering method.

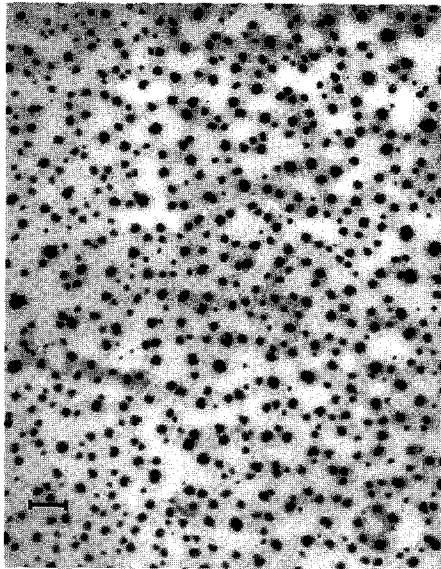


Figure 3—Transmission electron micrograph (TEM) of DDB microemulsion (magnification 30k) (scale bar = 200 nm).

며 또한 기존 고형제제의 함량인 7.5 mg이상을 1 ml의 수용액중에 함유할 수 있기 때문에 DDB 고형제제를 액제화하는데 응용될 수 있으리라 사료된다.

**점성도 측정** - SMEDDS액(10% 트리아세틴, S/CoS=1/2)의 점성도는 25°C 및 37°C에서 각각  $22.67 \pm 0.15$  및  $15.4 \pm 0.06$  cps로서 충분한 유동성을 확보하고 있음을 확인하였다.

**용출실험**

효율적인 SMEDDS는 수상과 접촉시 적당한 정도의 극성

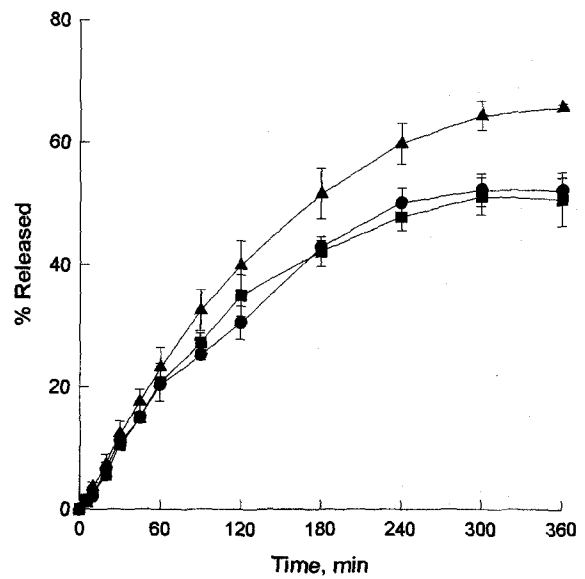
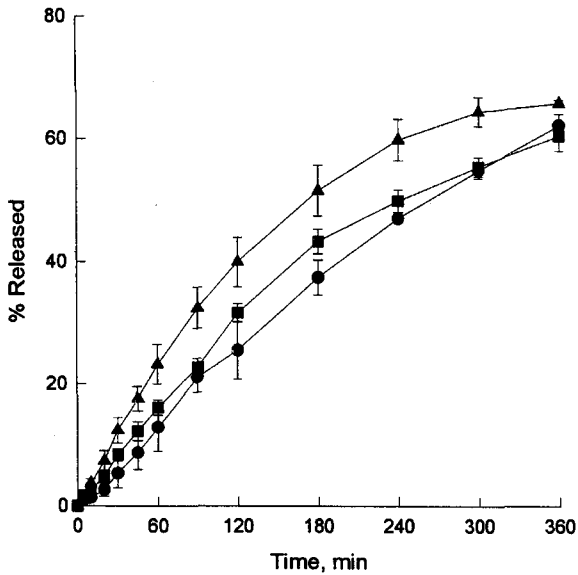


Figure 4—Dissolution profiles of DDB from SMEDDS of different oil percentage and S/CoS (Mean  $\pm$  SD, n=3). Key : ● ; oil 10%, S/CoS=1/5, ■ ; oil 30%, S/CoS=1/2, ▲ ; oil 10%, S/CoS=1/2.

을 나타내므로써 유적으로부터 수상으로 빠른 약물의 방출을 나타낸다.<sup>12)</sup> 그러나 SMEDDS의 경우는 용출액과 만나서 형성되는 마이크로에멀전 유적의 크기가 일반 여과지의 pore 크기(보통 0.45  $\mu$ m)보다 작을 수 있기 때문에 유적 밖으로 용출되어 나오는 DDB만을 정량하기 위해서는 유적은 걸러내고 용출된 DDB만을 통과시키는 수단이 필요하였다. 그러므로 SMEDDS의 용출시험의 경우는 용출용기내에 예비시험을 통하여 마이크로에멀전의 유적을 걸러낼 수 있음을 확인한 molecular weight cutoff가 12,000인 투석막으로 제조한 bag을 장착하여 이 안에 SMEDDS 검체를 넣고 bag 밖의 용출액을 시료로 취하여 분석하였다. Figure 4는 서로 다른 오일과 S/CoS의 비율에 따른 SMEDDS의 용출을 비교한 것이다. 360분에서의 평균용출량은 트리아세틴 10%, S/CoS=1/2의 조성비율을 가진 SMEDDS가 65.8%인데 반하여, 트리아세틴 10%, S/CoS=1/5의 비율의 처방에서는 52.3%, 트리아세틴 30%, S/CoS=1/2의 비율에서는 50.7%를 나타내었다. 즉 트리아세틴의 함량이 증가할수록, S/CoS의 비율이 작아질수록 약물이 용출되는 속도와 양이 감소하였다. 이와 유사하게 오일의 함량 및 S/CoS는 상평형도상에서 수중유형 마이크로에멀전 형성영역의 넓이의 증감에도 영향을 미쳤는데 상평형도에서 수중유형 마이크로에멀전 형성영역이 넓었던 처방은 DDB의 용출을 역시 높았다. 이는 마이크로에멀전 형성영역이 넓은 처방일수록 다량의 물에 희석되었을 때도 안정한 마이크로에멀전을 형성할 수 있는 우수한 유효능력을 갖기 때문이라고 사료된다.



**Figure 5**—Dissolution profiles of DDB from SMEDDS in the simulated gastric fluid (SGF), simulated intestinal fluid (SIF) and water (Mean  $\pm$  SD, n=3). Key: ■ ; SGF, ● ; SIF, ▲ ; water.

Figure 5는 인공위액, 인공장액 및 물에서 SMEDDS제제의 용출을 비교한 것이다. 360분까지의 평균용출이 각각 62.2%, 60.5%, 65.8%로 pH변화에 따른 유의성있는 차이가 없어 비이온성 성분들(오일과 계면활성제)로 이루어진 마이크로에멀전의 형성과 안정성에는 수상의 pH가 거의 영향을 미치지 않는다는 보고<sup>21)</sup>와 잘 부합하였다. 그러므로 본 실험에서 제조한 SMEDDS는 체내 투여시 위산과 같은 체액과 반

응하여 생체이용률이 크게 떨어지거나 분해되어 안정성이 저하되는 등의 문제가 없을 것으로 사료되었다.

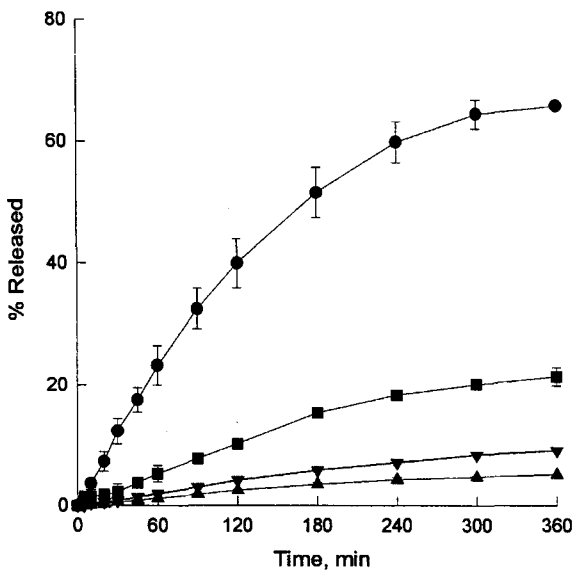
Figure 6은 제조한 SMEDDS 제제와 타 제형간의 용출을 비교한 것이다. SMEDDS는 트리아세틴 10%, S/CoS의 비율이 1/2인 처방으로 제조한 것을 사용하였고, 정제와 캡셀제는 현재 시판중인 제품을 사용하였다. 실험 결과 SMEDDS, 캡셀제, 미분화한 분말, 정제의 순서로 용출율이 높았으며, SMEDDS로 제조한 DDB가 기존의 제형보다 3~12배 이상 용출율이 향상되었음을 알 수 있었다. 그러므로 SMEDDS는 DDB 고형제형의 액제화 및 용출을 향상을 위한 수단으로 유용하게 사용될 수 있으리라 사료된다. 그러나 이는 유적에서 수상으로 방출된 DDB의 용출량만을 비교한 결과이기 때문에 임파관 등을 통하여 직접 흡수될 수 있는 유적중에 함유된 양까지도 고려한다면 실제 용출의 차이 및 흡수경로의 다양화에 기인되는 제형간의 흡수율의 차이는 이 보다 훨씬 클 수 있다.

**물리적 안정성 평가**

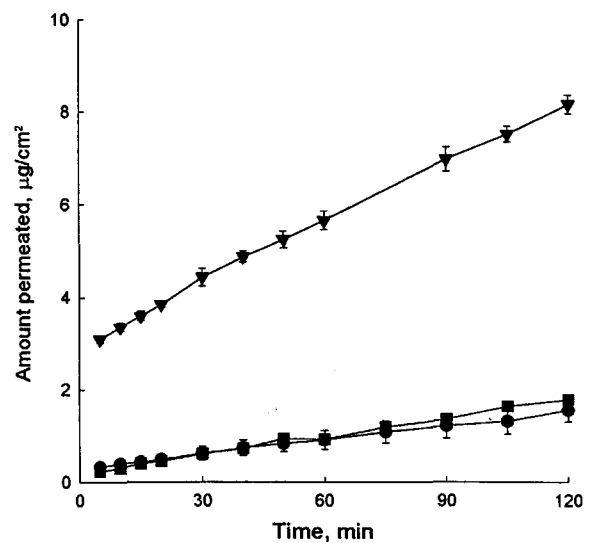
제조한 SMEDDS 제제는 10주 동안 상온에서 방치 후에도 침전의 생성, 혼탁도의 변화, 색의 변화등을 관찰할 수 없었으며 상분리가 일어나지 않아 물리적으로 안정함을 확인하였다.

**Caco-2 세포를 이용한 장관막 흡수시험**

Caco-2 세포를 이용한 장관막 흡수실험에서 apical side의



**Figure 6**—Dissolution profiles of DDB from various dosage forms in distilled water (Mean  $\pm$  SD, n=3). Key : ● ; SMEDDS, ■ ; capsule, ▼ ; powder(micronized), ▲ ; tablet.



**Figure 7**—Permeation profiles of DDB from powder and SMEDDS through Caco-2 cell monolayer membrane (Mean  $\pm$  SD, n=6). Key : ● ; Powder (2 µg/ml), ■ ; SMEDDS (2 µg/ml), ▼ ; SMEDDS (10 µg/ml).

**Table III**— Permeation Parameters of DDB in SMEDDS and Micronized Powder Solutions through Caco-2 Cell Monolayers

Parameter	Formulation		
	Powder (2 µg/ml)	SMEDDS (2 µg/ml)	SMEDDS (10 µg/ml)
Flux ( $\times 10^{-2}$ ) (µg/cm <sup>2</sup> /min)	1.03 ± 0.20	1.34 ± 0.0193	4.37 ± 0.149
P <sub>app</sub> ( $\times 10^{-3}$ ) (cm/min)	5.15 ± 1.02	6.72 ± 0.0967	5.60 ± 1.19

Data represent mean ± SD (n=6)

초기 농도가 2 µg/ml인 경우 SMEDDS와 DDB 분말 포화 용액간의 흡수속도는 유의성 있는 차이가 없었다(Figure 7). 그러나 apical side의 농도를 10 µg/ml로 증가했을 때 SMEDDS의 Caco-2 세포단막층을 통한 약물의 흡수량은 2 µg/ml인 경우에 비하여 약 3배로 증가되었는데 이는 SMEDDS 처방화를 통해 얻어지는 약물의 용해도 및 용출의 향상에 기인하는 것으로 사료된다. DDB포화용액과 서로 다른 두 농도의 SMEDDS 제제로부터의 Caco-2세포 단막층을 통한 흡수변수는 Table III에 나타내었다. SMEDDS 처방화에 따른 DDB의 용출을 향상과 상응하는 Caco-2 세포 단막층을 통한 투과량의 비례적인 증가는 DDB 흡수에 있어 용해도와 제형으로부터의 용출속도가 율속단계가 될 수 있다는 사실과 잘 부합되는 결과이다. 한편 각 경우에 평가한 P<sub>app</sub>는  $5.15 \times 10^{-3} \sim 6.72 \times 10^{-3}$  cm/min로 농도 및 제형의 차이에도 불구하고 매우 유사한 값을 나타내었다.

## 결 론

난용성 약물의 용출을 향상을 위한 SMEDDS의 유용성을 알아보기 위하여 물에 난용성인 DDB를 모델약물로 하여 SMEDDS를 설계하고 이들을 평가하기 위하여 용출시험과 Caco-2 세포막을 이용한 장관막 흡수시험을 수행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DDB를 함유하는 SMEDDS의 제조에는 유상으로 트리아세틴이, 계면활성제로 Labrasol이, 보조계면활성제로서는 Transcutol, Cremophor RH 40 및 Plurol oleique의 혼합액이 적절하였다.

2. SMEDDS에 물을 가하여 상평형도를 작성한 결과, 트리아세틴의 함량이 20%이하이거나, S/CoS의 비율이 커질수록 수중유형 (o/w) 마이크로에멀전의 형성영역이 넓어짐을 확인하였다. 본 연구에서는 DDB를 1% (w/w) 함유하는 SMEDDS 처방중 트리아세틴 10%, S/CoS=1/2의 조성을 갖는 처방이 가장 넓은 수중유형 마이크로에멀전 영역을 나타

내었다.

3. SMEDDS는 시판되는 정제, 캡셀제 및 미분화분말에 비하여 3~12배 이상 DDB의 용출율을 향상시켰으며, pH변화에 안정하였고, 수중유형 마이크로에멀전 형성영역이 넓은 처방이 빠른 용출율을 나타내었다.

4. SMEDDS로부터의 DDB의 Caco-2 세포단막층을 통한 흡수는 농도에 의존적으로 증가하였으며 농도가 동일한 경우 미분화 분말 포화용액에서의 흡수에 비하여 유의성 있는 차이가 없었다.

## 감사의 말씀

이 논문은 1997년 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었으며 지원에 감사를 드립니다.

## 문 헌

- 1) X.L. Wang, M.G. Yi, Z.M. Liu and Z.Y. Song, Absorption, distribution and excretion of biphenyl dimethyl dicarboxylate(BDD), *Yao Hsueh Hsueh Pao*, **18**, 892-899 (1983).
- 2) P.P. Xu, M.L. Lu, M.L. Xu and J. Zhu, Determination of bioavailability of bifendate preparation by HPLC, *Chinese J. Pharm.*, **20**, 127-129 (1989).
- 3) J. Hyun and I.K. Chun, Dissolution characteristics of biphenyl dimethyl dicarboxylate from solid dispersions and permeation through rabbit duodenal mucosa, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **24**, 57-65 (1994).
- 4) J.-W. Lee, E.-S. Park and S.-C. Chi, Formulation optimization of the tablet prepared with solid dispersion of biphenyl dimethyl dicarboxylate with poloxamer, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 267-274 (1998).
- 5) I. Danielsson and B. Lindman, The definition of microemulsion, *Colloids Surf.*, **3**, 391 (1981).
- 6) S.S. Davis, C. Washington, P. West, L. Illum, G. Liversidge, L. Sternson and R. Kirsh, Lipid emulsions as delivery systems, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **507**, 75-88 (1987).
- 7) H.N. Bhargava, A. Narurkar and L.M. Lieb, Using microemulsions for drug delivery, *Pharm. Tech.*, **March**, 26-53 (1987).
- 8) N. Farah, J.P. Laforet and J. Denis, Self-microemulsifying drug delivery systems for improving dissolution and availability of poorly soluble active ingredients, *B. T. Gattefosse*, **87**, 41-47 (1994).
- 9) D. Attwood, Microemulsions : In *Colloidal Drug Delivery Systems*, Kreuter (Ed.), Marcel Dekker, New York, pp. 31-71 (1994).
- 10) D. Langevin, Microemulsions-interfacial aspects, *Advances in Colloid and Interface Science*, **34**, 583-595 (1991).
- 11) C.W. Pouton, Self-emulsifying drug delivery systems : As-



- essment of the efficiency of emulsification, *Int. J. Pharm.*, **27**, 335-348 (1985).
- 12) N.H. Shah, M.T. Carvajal, C.I. Patel, M.H. Infeld and A.W. Malick, Self-emulsifying drug delivery systems with polyglycolized glycerides for improving *in vitro* dissolution and oral absorption of lipophilic drugs, *Int. J. Pharm.*, **106**, 15-23 (1994).
- 13) S.A. Charman, W.N. Charman, M.C. Rogge, T.D. Wilson, F.J. Dutko and C.W. Pouton, Self-emulsifying drug delivery systems : Formulation and biopharmaceutical evaluation of an investigational lipophilic compound, *Pharm. Res.*, **9**, 87-93 (1992).
- 14) G.E. Amidon, W.I. Higuchi and F.H. Ho. Norman, Theoretical and experimental studies of transport of micelle-solubilized solutes, *J. Pharm. Sci.*, **71**, 77-84 (1982).
- 15) D.Q.M. Craig, The use of self-emulsifying systems as a means of improving drug delivery, *B. T. Gattefosse*, **86**, 21-31 (1993).
- 16) P. Artusson, Epithelial transport of drugs in cell culture. I : A model for studying the passive diffusion of drugs over intestinal absorptive (Caco-2) cells, *J. Pharm. Sci.*, **79**, 476-482 (1990).
- 17) I.J. Hidalgo, K.M. Hillgreen, G.M. Grass and R.T. Borchard, Characterization of the unstirred water layer in Caco-2 cell monolayers using a novel diffusion apparatus, *Pharm. Res.*, **8**, 222-227 (1991).
- 18) P. Artusson and C. Magnusson, Epithelial transport of drugs in cell culture. II : Effect of extracellular calcium concentration on the paracellular transport of drugs of different lipophilicities across monolayers of intestinal epithelial (Caco-2) cells, *J. Pharm. Sci.*, **79**, 595-600 (1990).
- 19) K. L. Audus, R. L. Bartel, I. J. Hidalgo and R. T. Borchardt, The use of cultured epithelial and endothelial cells for drug transport and metabolism studies, *Pharm. Res.*, **7**, 435-451 (1990).
- 20) J.-H. Bae, E.-S. Park and S.-C. Chi, Solubilization of biphenyl dimethyl dicarboxylate in aqueous solution, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **27**, 199-206 (1997).
- 21) P.P. Constantinides, Lipid microemulsions for improving drug dissolution and oral absorption : Physical and biopharmaceutical aspects, *Pharm. Res.*, **12**, 1561-1572 (1995).