

고인습성 약물인 피리도스티그민의 마이크로캡셀화에 의한 분체 특성의 개선

김대석 · 김인화 · 정석재 · 심창구[†]

서울대학교 약학대학 종합약학연구소

(2002년 1월 14일 접수 · 2002년 3월 4일 승인)

Improved Micrometric Properties of Pyridostigmine Bromide, a Highly Hygroscopic Drug, through Microencapsulation

Dae Suk Kim, In Wha Kim, Suk Jae Chung and Chang-Koo Shim[†]

Research Institute of Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy, Seoul National University, San 56-1, Shinlim-Dong, Kwanak-Gu, Seoul 151-742, Korea

(Received January 14, 2002 · Accepted March 4, 2002)

ABSTRACT—The purpose of this study is to microencapsulate a highly hygroscopic drug, pyridostigmine bromide (PB), with a waterproof wall material, in order to increase the flowability of the drug particles. Polyvinylacetaldethylaminoacetate (AEA), Eugragit E and Eugragit RS were examined as the wall materials. Microcapsules containing PB were prepared by the evaporation technique in an acetone/liquid paraffin system using aluminum tristearate as a core material, and evaluated for drug encapsulation efficiency, surface morphology, particle size and drug dissolution. The encapsulation of PB in the wall material was almost complete. Among the wall materials examined, AEA exhibited the most excellency in shape, surface texture, flowability, size distribution of microcapsules. Above results suggest that AEA would be a potential wall material for microencapsulation of highly hygroscopic drugs, such as PB. Through microencapsulation with AEA, inconvenience of handling of PB powders encountered in the process of weighing and packing the powders to tableting die or capsule body could be greatly improved.

Keywords—Pyridostigmine bromide, Hygroscopic drug, Microcapsule, Flowability, AEA, Eugragit E, Eugragit RS

일반적으로 고인습성 약물은 보관 중 습윤하여 분말의 유동성이 나빠지거나, 착색, 분해 등의 화학적 반응이 촉진되어, 약물의 안정성이 떨어진다. 유동성은 칭량시, 또는 타정기의 die나 캡셀에 충전시 영향을 미쳐 정제나 캡셀제의 함량균일성을 좌우하는 주요 인자이다. 따라서 인습성 약물은 특히 보존에 주의하여야 하고, 가능하면 인습성을 줄여 유동성을 높힐 수 있도록 제제학적 가공을 하는 것이 바람직하다.

일반적으로 약물의 유동성에 영향을 미치는 인자는 다음과 같다. 1) 입자도와 입자분포: 입자도가 클수록 유동성이 좋다. 실험결과 400~800 μm 의 입자가 가장 유동성이 좋다고 한다.¹⁾ 입자경이 200 μm 이상으로 클 때는 관계 없으나 입자경이 150 μm 이하가 되면 부착력이 커져 유동성이 나빠진다고 한다.²⁾ 또한 정제기의 진동 때문에 hopper내에서 혼합이 일어나지 않을 가능성을 방지하기 위하여 적절한 입자 분포가 필요하다.¹⁾ 미분이 적당히 존재하면 미분이 큰

입자에 달라 붙어 정지 마찰을 구름 마찰로 전환시키므로 유동성을 좋게 한다.³⁾ 2) 입자의 모양: 입자가 구형에 가까울수록 유동성이 좋으며, 바늘(needle) 모양에 가까울수록 유동성이 나쁘다. 3) 표면상태: 입자의 표면이 매끄러울수록 유동성이 좋아진다. 4) 공극률과 밀도: 입자의 내부 공극이 작고 따라서 밀도가 클수록 유동성이 좋아진다. 5) 습도와 인습성: 분체의 함수율이 증대하면 유동성이 나빠진다. 특히 흡습성의 분체는 부착, 응집력이 현저하게 증대되어 유동성이 나빠진다.

일반적으로 고인습성 약물을 수분투과가 낮은 코팅 물질로 마이크로캡셀화하여 입자도를 크게, 모양을 구상으로, 표면을 매끄럽게 하고 인습성을 개선한다면 유동성은 증가되리라 생각된다. 실제로 염화나트륨을 마이크로캡셀에 봉입하여 인습성을 줄이고 유동성을 개선한 사례⁴⁾가 보고되어 있다.

Pyridostigmine bromide (3-[(diethylamino)carbonyl]oxy-1-methylpyridinium, 이하 PB라 약칭함, Figure 1)는 carbamate계열의 4급 암모늄 화합물로 생체내의 신경절과 신경말단에 존재하는 acetylcholinesterase를 가역적으로 저해하여

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : +82-2-880-7873, E-mail : shimck@plaza.snu.ac.kr

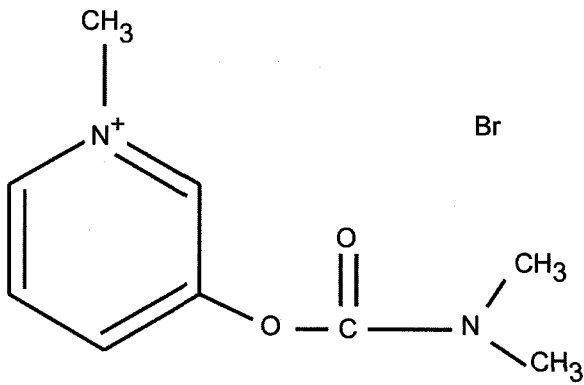


Figure 1—Chemical structure of pyridostigmine bromide.

콜린성 효과를 증대시키는 작용을 갖고 있다. PB는 신경전달물질인 아세틸콜린의 농도가 저하되어 있는 중증근무력증 환자의 체내 acetylcholine의 농도를 증가시켜 근육의 활력을 회복시켜 주는 약물 또는 neuromuscular disorder의 치료용 약물로 사용되고 있다.⁵⁾ PB 제제는 PB의 치료역이 좁기 때문에 제제중 PB의 함량이 함량균일성시험에 적합하여야 한다. 그러나 PB는 대표적인 인습성 약물로 공기 중에서 신속히 인습하여 액화하기 때문에 칭량중 인습하여 정확한 양을 칭량하기 어려울 뿐만 아니라 제제 가공중 또는 보존 중에 인습에 의해 약물이 분해 변질될 우려가 커서, 실제로 함량균일성 조건을 만족시키는 제제를 만들기에는 많은 어려움이 있는 약물이다. 본 연구에서는 이 PB를 마이크로캡셀화 함으로써 인습성을 줄이고 유동성을 줄이고자 시도하였다. 본 연구의 결과는 많은 인습성 입자의 유동성을 개선하는 방법으로 원용될 가능성이 높을 것이다.

실험방법

시약 및 재료

Pyridostigmine bromide(PB)은 Sigma Chemical Co. Ltd. (St. Louis, U.S.A.)에서 구입하였으며 polyvinylacetal-diethylaminoacetate (AEA)은 영진약품 (Seoul, Korea)에서, Eudra-

git E 100 및 Eudragit RS 100은 Rohm Pharma GmbH (Weiterstadt, West Germany)에서 구입하였다. Aluminium tristearate, acetone, *n*-hexane, sodium chloride, hydrochloric acid 및 acetic acid (glacial)는 Junsei Chemical Co., Ltd. (Toyko, Japan)에서, sodium sulfate anhydrous는 동양화학 (Seoul, Korea)에서, liquid paraffin은 Yakuri Pure Chemical Co., Ltd. (Osaka, Japan)에서 구입하였다. HPLC 용 methanol, acetonitrile은 Merck Co. (Darmstadt, FRG)에서 potassium phosphate, monobasic sodium hydroxide는 Shinyo Pure Chemical Co., Ltd. (Osaka, Japan)에서, sodium 1-hexanesulfonate는 Aldrich Chemical Company, Inc. (Milwaukee, WI, U.S.A.)에서 구입하였다.

마이크로캡셀의 제조

코팅물질로는 위용성과 장용성, 수분투과성을 고려하여 AEA, Eudragit E 및 Eudragit RS를 선택하여 검토하였다. 각 코팅물질의 주용도, 용해성과 수분투과성은 Table I과 같다.⁶⁾ 마이크로캡셀은 Goto^{7,8)}의 방법, 즉 유중건조법을 조금 변경하여 사용하였다 (Figure 2). 즉 AEA, Eudragit E 또는 Eudragit RS를 30 ml의 아세톤에 넣어 완전히 녹였다. 여기에 aluminium tristearate와 PB를 가하고 0°C에서 30분간 교반하였다. 위의 현탁액을 미리 4°C로 냉각시킨 유동파라핀 100 ml에 가한 후 서서히 35°C까지 가온하면서 150 rpm으로 4시간 교반하였다. 이것을 여과하여 마이크로캡셀을 분리하고 50 ml *n*-hexane으로 5회 세척, 여과, 분리한 후에 3일간 동결건조하였다.

마이크로캡셀의 입도분포 측정

마이크로캡셀의 입도분포는 대한약전 규격 표준체(10, 20, 25, 35, 45 및 140호체)⁹⁾를 사용하여 측정하였다. 과립제의 입도시험 방법¹⁰⁾에 따라서 일정량의 시료를 상단체에 넣고 뚜껑을 덮은 다음 3분간 수평으로 흔들어서 주면서 때때로 가볍게 두드려준 다음, 각 체위의 잔류한 마이크로캡셀의 무게를 측정하여 입도분포를 구하였다. 그리고 크기가 150~

Table I—Water-solubility, Moisture-permeability and Application of Major Coating Materials

Coating material		Solubility	Permeability	Application
Trade name	Chemical name			
AEA	Polyvinylacetal-diethylaminoacetate	Soluble at pH < 5.8	109 g H ₂ O/m ² /d (film thickness : 100 μm)	Protective coating and/or film coating
Eudragit E 100	Dimethylaminoethylmethacrylate-ethylmethacrylate copolymer	Soluble at pH < 5	350 g H ₂ O/m ² /d (film thickness : 25 μm)	Gastric fluid-soluble film coating
Eudragit RS 100	Methacrylate trimethylammonium-methacrylate chloride copolymer	Swellable at all pH	250 g H ₂ O/m ² /d (film thickness : 25 μm)*	Water insoluble film coating for delayed release

*Moisture Absorption

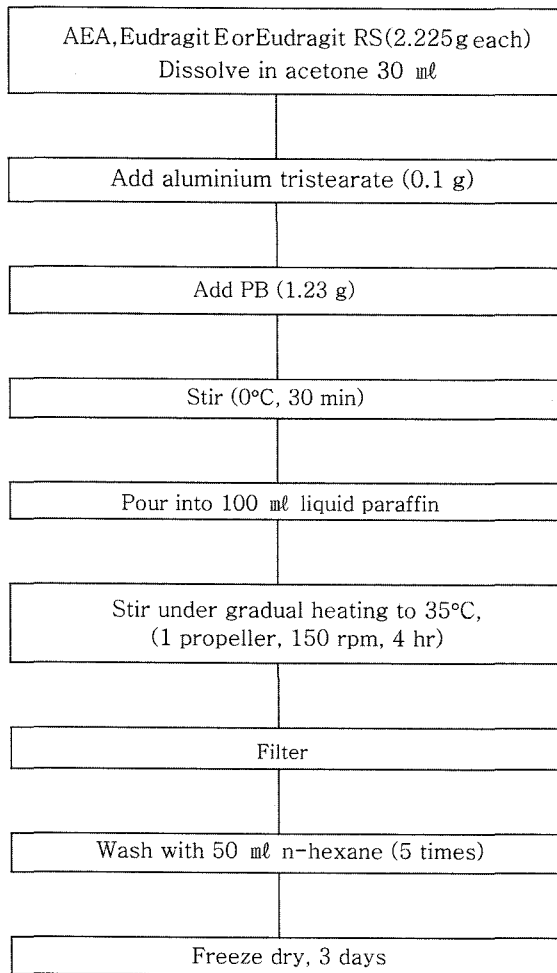


Figure 2—Preparation of AEA, Eudragit E or Eudragit RS microcapsules by solvent evaporation.

840 μm 범위의 마이크로캡셀을 사용하여 함량실험, 용출시험, 육안관찰을 하였다.

마이크로캡셀 중의 PB의 함량 측정

Alex와 Bodmeier¹¹⁾의 방법에 따라 측정 하였다. PB 340 μg 에 해당하는 마이크로캡셀 (150~840 μm 범위의 분획)을 칭량하고 메탄올로 10 ml가 되게 하고 5분간 vortexing하여 완전히 녹인 후에 270 nm에서 HPLC¹²⁾로 PB를 정량하여 함량을 구하였다. 각 실험은 3회 반복하여 평균값을 구하였다. HPLC기기로는 Shimadzu사의 Liquid Chromatography Pump (LC-9A), System controller (SCL-6B), UV spectrophotometric detector (SPD-6A), Integrator (C-R6A)를 사용하였다. HPLC column으로는 Shim-Pack CLC-ODS(M) (Shimadzu, 25 cm)에 μ -Bondapak C-18/corasil reversed phase liquid chromatography packing material로 충전된 guard column을 연결하여 사용하였다. 이동상은 20%

acetonitrile(acetonitrile : water = 20 : 80, 50 mM hexanesulfonic acid sodium salt, 0.1% acetic acid)을 사용하였으며 유속은 1.2 ml/min으로 하였으며, 270 nm에서 peak area를 구하였다. Retention time은 약 5분이었다. PB 약 4.6 mg을 정밀하게 칭량하여 메탄올을 용매로 하여 5.75, 11.5, 23, 46, 69 및 92 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 한 표준액으로부터 작성한 검량선으로 부터 마이크로캡셀 중 PB의 농도를 산출하였다.

마이크로캡셀의 표면특성 관찰

23°C, 63% 상대습도 하에서 PB와 AEA, Eudragit E 또는 Eudragit RS로 만든 마이크로캡셀(150~840 μm 범위의 분획) 각 1g을 취하여 밀면의 직경이 2 cm인 유리판 위에서 떨어뜨림으로써 마이크로캡셀의 유동성 및 흡습성을 육안으로 관찰하였다. 그리고 관찰 후 5, 30, 210 및 360분에 사진을 찍었다. 또한 마이크로캡셀의 피막형성과 표면구조를 비교, 검토하기 위하여 주사형 전자현미경(SEM)으로 관찰하였다. 시료를 접착 tape를 사용하여 sample stub 부착시킨 다음 fine coat에 넣고 진공도 (0.15 Torr) 및 고전압 (12 KV, 12 mA)의 조건에서 금과 palladium으로 피복하였다. 이렇게 전처리한 시료를 주사형 전자현미경 본체 내에 고정시키고 가속전압 25 KV에서 적당한 배율($\times 100$, $\times 350$, $\times 500$, $\times 1000$)로 관찰하였다.

용출시험

제조한 마이크로캡셀에 대하여 대한약전 제7개정 용출시험법의 제 2법인 paddle법을 이용하여 시험하였다. 약 100 mg의 마이크로캡셀 (150~840 μm 범위의 분획)을 칭량하여 용출용매로 대한약전의 붕해시험 제 1액 (pH 1.2 HCl 완충액) 또는 제 2액 (pH 6.8 인산염완충액) 900 ml를 사용하여 37 (0.5°C, 50 rpm에서, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 및 180분마다 용출액 1 ml를 취하고 즉시 동량의 용출용매를 보충하였다. 채취한 검체는 270 nm에서 HPLC로 정량하여 미리 작성한 검량선에서 용출량을 계산하였다.¹³⁾ 각 실험은 3회 반복하였다.

실험결과 및 고찰

마이크로캡셀의 제조

아세톤과 유동 파라핀계를 사용한 유중건조법을 이용하여 제조한 마이크로캡셀의 수득률을 비교하였을 때 AEA를 코팅물질로 사용한 경우 약 88%, Eudragit E를 코팅 물질로 사용한 경우 약 84%, Eudragit RS를 코팅물질로 사용한 경우 약 80%의 비교적 높은 수득률을 나타내었다.

Table II—Content of Pyridostigmine Bromide (PB) and Size Distribution of PB-containing Microencapsules

Coating Polymer	Content of PB (%) [*]	Size Range (μm)				
		105-350	350-500	500-710	710-810	810-2000
AEA	33.75 ± 1.16	2.9573	27.0521	43.3728	18.2857	8.3321
Eudragit E	32.12 ± 0.72	43.4957	47.1513	7.4172	1.2501	0.6857
Eudragit RS	32.34 ± 0.10	15.0384	34.5096	35.7053	12.8512	1.8956

^{*}Theoretical Content : 34.6% (w/w)

마이크로캡셀중의 PB함량

Alex와 Bodmeier¹¹⁾가 사용한 방법에 따라 정량하였다. PB가 완벽하게 마이크로캡셀에 봉입되었다고 가정할 경우, PB의 함량은 34.6%가 된다. 본 연구에서 제조한 마이크로캡셀 중 PB의 함량은 wall material의 종류에 관계없이 이 값에 근접하였다 (Table II). 이로부터 AEA, Eudragit E 또는 Eudragit RS를 코팅물질로 사용하여 비교적 많은 양 (약 30% 이상)의 PB를 마이크로캡셀화 할 수 있음을 알았다.

주사형 전자현미경 관찰

AEA를 코팅물질로 사용한 경우에 구상 성형성과 정립성이 양호하였으며, 표면은 비교적 매끄러우나 소공이 관찰되었다. Eudragit E를 코팅물질로 사용한 경우 구상 성형성과 정립성은 AEA에 비해서 떨어지고, 표면이 거칠고 소공이 관찰되었다. Eudragit RS를 코팅물질로 사용한 경우 구형이 아닌 cluster 모양으로 표면이 거칠고 소공이 관찰되었다. 구상 성형성과 정립성과 표면상태를 비교해 볼 때 AEA로 제조한 마이크로캡셀이 유동성 면에서 가장 양호하다고 생각되었다.

마이크로캡셀의 입도분포 측정

제조한 마이크로캡셀의 입도분포를 Table II에 나타내었다. AEA를 코팅물질로 사용한 경우에는 정규분포를 보였으나, Eudragit RS를 코팅물질로 사용한 경우 105~500 μm에 주로 분포하였다. AEA나 Eudragit E를 코팅물질로 사용한 경우, 유동성이 좋다고 알려진 400~800 μm 영역의 입자의 분포가 많았다. 한편 분체의 입자경이 150 μm 이하가 되면 부착력이 급격히 커져 유동성이 나빠지는 것으로 알려져 있는데, AEA의 경우 약 3%, Eudragit E의 경우 약 15%의 미분체 (즉 150 μm 이하 분체)가 생겼다. 또한 AEA로 만든 마이크로캡셀이 350 μm 통과량이 제일 적었다. 과립제의 경우, 유동성을 확보하기 위한 기준으로 350 μm를 통과한 과립이 전체양의 15% 이하이어야 한다는 규정이 있다.¹⁰⁾ 따라서 150 μm 및 350 μm 이하의 분율이 가장 적은 AEA가, 유동성 면에서 Eudragit E보다 우수한 wall material인 것으로 생각되었다.

PB와 제조한 마이크로캡셀의 육안관찰 결과

PB의 경우 칭량 후 약포지가 5분내에 인습하여 거의 액화하였으며, 6시간 후에는 바이알에 넣은 PB도 모두 액화하였다. 그러나 제조한 마이크로캡셀의 경우 6시간까지 약포지 위에서 액화가 관찰되지 않았으며, 6시간 후에는 Eudragit E를 코팅물질로 사용한 마이크로캡셀의 경우에만 조금 인습하였다. 유동성면에서는 AEA를 코팅물질로 사용한 마이크로캡셀이 PB자체보다 현저히 향상된 유동성을 보였으며, Eudragit E 또는 Eudragit RS를 코팅물질로 사용한 마이크로캡셀보다도 양호한 유동성을 보였다. 주사 전자 현미경(SEM)으로 관찰한 입도분포 시험의 결과, Eudragit E를 코팅물질로 사용한 마이크로캡셀이 Eudragit RS를 코팅물질로 사용한 마이크로캡셀보다 유동성이 좋을 것으로 생각되었으나, 육안 관찰시에는 Eudragit RS를 코팅물질로 사용한 마이크로캡셀의 유동성이 더 좋았다. 이것은 Eudragit E가 Eudragit RS 보다 흡습성이 더 크기 때문이라 생각된다. 주사형 전자현미경 관찰, 입도분포 시험의 결과와 육안관찰 결과를 요약하면 Table III과 같다.

마이크로캡셀의 용출시험

용출시험의 결과를 Figure 3에 나타내었다. pH 1.2 HCl 완충용액에서는 AEA나 Eudragit E를 코팅물질로 사용한 경우 각각 10분에 92.99%, 89.99% 용출되어, 이 두 마이크로캡셀은 *in vivo*에서 위내에서 신속히 용출되는 위용성의 속용제에 이용할 수 있으리라 생각되었다. 그러나 Eudragit RS를 코팅물질로 사용한 마이크로캡셀의 경우, 비교적 용출이 느려 서방성 제제에 이용가능하다고 생각되었다. pH 6.8 인산염완충용액에서 용출시험한 경우에는 AEA의 경우 용출이 45분에 53.83%로 비교적 느렸는데, 이미 위내용액에 해당하는 pH 1.2 HCl 완충용액에서 신속히 용출되었으므로,

Table III—Shape, Surface Texture and Flowability of Microcapsules

Shape (Sphericity)	AEA > Eudragit E >> Eudragit RS
Surface texture (Smoothness)	AEA >> Eudragit E >> Eudragit RS
Flowability	AEA >> Eudragit RS >> Eudragit E

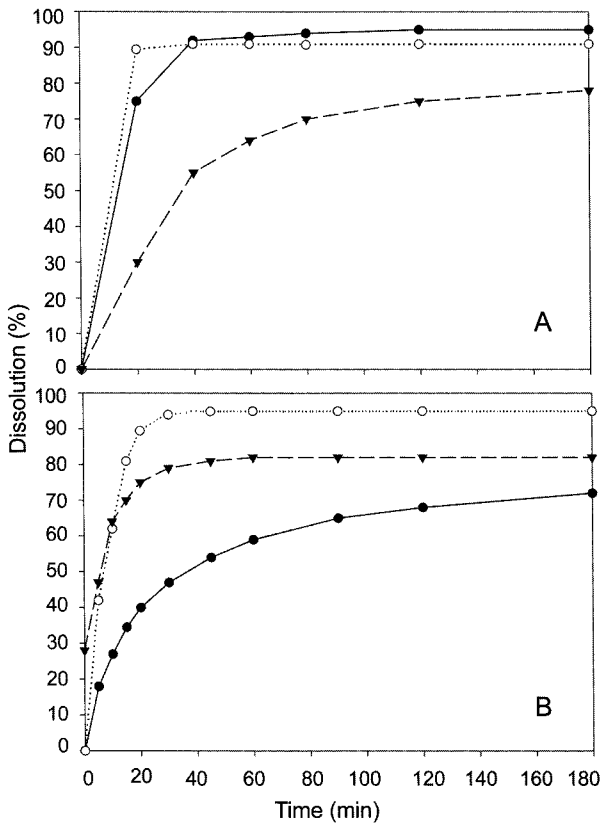


Figure 3-Dissolution (percent) of pyridostigmine bromide from AEA (○), Eudragit E (▼) or Eudragit RS (●) microcapsules at 37°C and 50 rpm in pH 1.2 HCl buffer (A) and pH 6.8 phosphate buffer solution (B).

이 때문 (pH 6.8에서 느리게 용출되는 성질)에 흡수가 영향 받지 않는 것으로 생각되었다. Eudragit E 경우 pH 6.8에서 20분에 89.17%로 pH 1.2 HCl 완충용액에서 보다는 느렸으나 신속히 용출되었다. 이러한 결과는 Eudragit E가 pH 5 이상에서는 용해되지 않고 단지 팽윤만 하므로 소공이 다소 크다는 것을 의미한다. Eudragit RS의 경우 pH 6.8에서도 pH 1.2에서와 같이 PB가 느리게 용출되었는데, 이것은 Eudragit RS가 수불용성이고 단지 팽윤만 하므로 소공을 통하여 용출되기 때문으로 생각되었다.

결 론

유중건조법을 이용하여 PB가 약 30% 함유된 AEA, Eudragit E 또는 Eudragit RS 마이크로캡셀을 제조하였다. 모양과 표면상태를 비교하였을 때 AEA를 코팅물질로 사용한 마이크로캡셀이 가장 잘 만들어졌다. AEA를 코팅물질로 사용한 마이크로캡셀의 입도는 정구분포를 보였으며 유동성이 가장 좋았다. 이로부터 PB 같은 고인습성 약물의 분체

특성을 개선하기 위하여, AEA 같은 물질을 wall material로 써서 마이크로캡셀화 하는 것이 유용한 방법이 될 수 있을 것으로 생각되었다.

감사의 말씀

이 연구는 서울대학교 종합약학대학연구소의 연구비지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드린다.

문 헌

- 1) A.M. Raff, A.S. Armbulo, A.J. Perkins and D.L. Deardorff, Compressed tablet: Internal flow of granulation during compression. *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **44**, 290-296 (1955).
- 2) Y. Nakai and M. Hanano, *Pharmaceutics, Theory and Practice*, Nanzando Co. Tokyo, Japan, pp.120 (1974).
- 3) F.C. Hammerness and H.O. Thompson, A study of the effect of lubricant and fines on a tablet granulation. *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **47**, 58-61 (1958).
- 4) J.A. Bakan, Microencapsulation of foods and related products. *Food Technol.*, **27**, 34 (1973).
- 5) W. Flacke, Treatment of myasthenia gravis. *N. Engl. J. Med.*, **288**, 27-31 (1973).
- 6) Eudragit Information Pamphlets from the manufacturing company Röhm, Pharma, 4. GmbH Darmstadt, West Germany.
- 7) S. Goto, M. Kawata, M. Nakamura, K. Maekawa and T. Aoyama, Eudragit E, L and S (acrylic resins) microcapsules as pH sensitive release preparations of ketoprofen. *J. Microencap.*, **3**, 305-316 (1986).
- 8) M. Kawata, M. Nakamura, S. Goto and T. Aoyama, Preparation and dissolution pattern of Eudragit RS microcapsules containing ketoprofen. *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2618-2623 (1986).
- 9) The Korean Pharmacopoeia, Seventh Edition, Korean Food and Drug Administration, Korean Association of Official Compendium for Public Health. Medical Index Korea, Seoul, Korea, pp. 1512 (1998)
- 10) The Korean Pharmacopoeia, Seventh Edition, Korean Food and Drug Administration, Korean Association of Official Compendium for Public Health. Medical Index Korea, Seoul, Korea, *ibid*, pp. 34 (1998).
- 11) R. Alex and R. Bodmeier, Encapsulation of water-soluble drugs by a modified solvent evaporation method. I. Effect of process and formulation variables on drug entrapment. *J. Microencap.*, **7**, 347-355 (1990).
- 12) T.S. Phi, Y. Cho, D.E. Sok, S.H. Cha, Y.S. Chung, Quantitative Analysis of pyridostigmine bromide in tablets by HPLC. *J. Kor. Pharm. Sci.*, **21**, 171-177 (1991).
- 13) *Ibid*, pp. 1282-1288 (1998).