

## 담즙산염과의 고체분산체로부터 로바스타틴의 용출 및 십이지장 점막 투과 특성

전인구<sup>†</sup>

동덕여자대학교 약학대학

(2009년 2월 9일 접수 · 2009년 3월 18일 수정 · 2009년 3월 20일)

### Dissolution and Duodenal Permeation Characteristics of Lovastatin from Bile Salt Solid Dispersions

In Koo Chun<sup>†</sup>

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

(Received February 9, 2009 · Revised March 18, 2009 · Accepted March 20, 2009)

**ABSTRACT** – Although lovastatin (LS) is widely used in the treatment of hypercholesterolemia, its bioavailability is known to be around 5%. This study was aimed to increase the solubility and dissolution-permeation rates of LS using solid dispersions (SDs) with bile salts. The solubilities of LS in water, aqueous bile salt solutions and non-aqueous vehicles were determined, and effects of bile salts on the cellulose or duodenal permeation of LS from SDs were evaluated using a horizontal permeation system. SDs were prepared at various ratios of LS to carriers, such as sodium deoxycholate (SDC), sodium glycocholate (SGC) and/or 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HPCD). The addition of bile salts (25 mM) in water increased markedly the solubility of LS by the micellar solubilization. Some non-aqueous vehicles were effective in solubilizing LS. From differential scanning calorimetric studies, it was found that the crystallinity of LS in SDs disappeared, indicating a formation of amorphous state. The SDs showed markedly enhanced dissolution compared with those of their physical mixtures (PMs) and drug alone. In the dissolution-permeation studies using a cellulose membrane, the donor and receptor solutions were maintained as a sink condition using pH 7.0 phosphate buffer containing 0.05% sodium lauryl sulfate (SLS). The flux of LS alone was nearly same as that of LS-SDC-HPCD (1:3:6) PM. However, the flux of LS-SDC-HPCD (1:3:6) SD slightly increased compared with drug alone and PM, suggesting that entrapment of LS in micelles does not significantly hinder the permeation across cellulose membrane. In the dissolution-duodenal permeation studies using a LS-HPCD-SDC (1:3:6) SD, the addition of various bile salts in donor solutions (25 mM) enhanced the permeation of LS markedly, and the fluxes were found to be  $0.69 \pm 0.41$ ,  $0.87 \pm 0.51$ ,  $0.84 \pm 0.46$ ,  $0.47 \pm 0.17$  and  $0.68 \pm 0.32$   $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$  for sodium cholate (SC), SDC, SGC, sodium taurodeoxycholate (STDC) and sodium taurocholate (STC), respectively. The stepwise increase of donor SGC concentration increased the flux dose-dependently. From the relationship of donor SGC concentration and flux, the concentration of SGC initiating the permeation across the duodenal mucosa was calculated to be 11.1 mM, which is nearly same as the critical micelle concentration (CMC, 11.6 mM) of SGC. However, with no addition of bile salts and below CMC, the permeation was very limited and erratic, indicating that LS itself is very poor permeable. Higher proportions of bile salt in SD such as LS-SDC or LS-SGC (1:49 and 1:69) showed highly promoted fluxes. In conclusion, SD systems with bile salts, which may form their micelles in intestinal fluids, might be a promising means for providing enhanced dissolution and intestinal permeation of practically insoluble and non-absorbable LS.

**Key words** – Lovastatin, Solubilization, Duodenal permeation, Bile salts, Solid dispersion

로바스타틴(LS,  $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_5$ : 404.55, Figure 1)은 *아스페르길루스 테레우스*로부터 단리되었으며 1987년 미국식품의약국으로부터 승인을 받은 최초의 스타틴계 약물이다. 이 약물은 불활성의 락톤 형태로 심바스타틴과 같이 간에서  $\beta$ -히드록시산의 형태로 가수분해되는 프로드럭이다.<sup>1)</sup> LS의 대사체

는 3-히드록시-3-메틸글루타릴-코엔자임 A(HMG-CoA) 환원 효소를 특이적, 가역적 및 상경적으로 강력하게 억제하여 콜레스테롤 생합성의 율속단계인 메발로네이트 생성을 억제하여 간에서의 콜레스테롤 합성을 감소시키고 저밀도 지단백질(LDL)의 수용체 합성을 증가시켜 LDL 제거를 증가시키고 혈장 LDL 콜레스테롤 농도를 감소시킨다.<sup>2,3)</sup> 이와 같은 효과로 항고지혈제로 널리 사용되고 있다.<sup>4)</sup>

LS의 투여량은 1일 10~80 mg으로 20 mg 정제가 널리 쓰이고 있으며, 콜레스테롤의 합성이 자정부터 새벽 5시까지

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 02)940-4523, E-mail : ikchun@dongduk.ac.kr

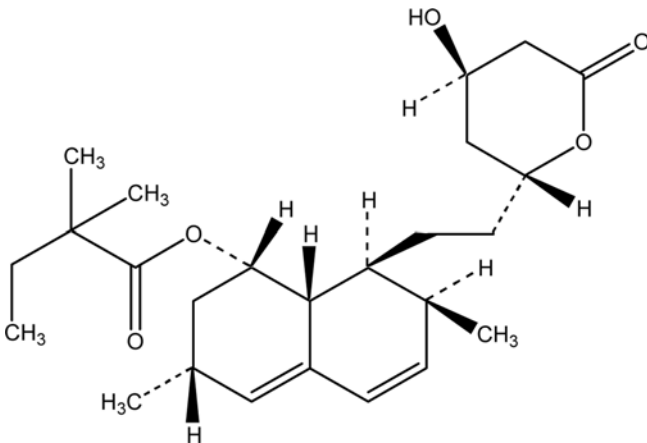


Figure 1—Chemical structures of LS.

지 가장 높으므로 취침전에 복용하는 것이 효과적이다. LS는 동물에서 약 30%가 흡수되며, 사람에서는 경구투여 용량의 10%가 요중으로, 83%가 분변으로 배설되며 5%의 낮은 생체이용률을 나타낸다. 이 약물은 간에서 주로 대사되어 다량이 담즙으로 배설되며 혈장단백과는 95% 이상 결합한다. LS의 즉시방출 정제와 서방출 정제(40 mg)를 각각 저녁 식사시 및 취침전에 반복 경구투여하였을 때 28일 후  $\beta$ -히드록시산의 최고혈중농도는 각각 11.9 및 5.8 ng/mL, 최저혈중농도는 각각 0.7 및 3.1 ng/mL, 최고혈중농도 도달시간은 각각 5.3 및 11.8시간으로 보고되어 서방출 제제는 흡수상이 길고 최고혈중농도가 낮으며 이에 도달하는 시간이 길다.<sup>5,6)</sup>

스타틴계 약물의 유해반응으로는 근육통이나 근이완과 같은 근질환과 횡문근융해 등이 있는데 이러한 증상은 혈중약물농도와 관련된다. LS는 소장과 간의 흡수과정 중 에스테라제나 파라옥소나제에 의해 효소적으로 또는 비효소적으로 가수분해되어  $\beta$ -히드록시산을 생성하며 이것과 락톤형은 간에서 사이토크롬 P450 3A4 (CYP 3A4)에 의해 산화되어 대사체를 형성한다.<sup>7)</sup>  $\beta$ -히드록시산은 효소적으로 락톤화 반응을 수반하는 것으로 보고되어 있다.<sup>8)</sup> 또한 LS는 소장 세포를 통과하는 동안 장세포에 존재하는 CYP 3A4에 의해 대사되거나 P-글리코프로테인에 의해 장으로 송출되어 대사효소나 수송체를 억제하는 사이클로스포린이나 이트라코나졸과 같은 약물을 병용하면 스타틴의 혈중농도를 증가시키는 결과를 초래하며, 리팜피신과 같은 CYP 3A4를 유도하는 약물을 병용하면 혈중농도가 감소하는 것으로 알려져 있다.<sup>9)</sup>

스타틴계 약물의 최고혈중농도를 감소시키기 위하여 서방성 삼투압펌프,<sup>10)</sup> 자기유화 약물전달시스템의 마이크로캡슐화<sup>11)</sup> 등의 서방출 제제 개발이 시도되었다. 이와 같이 서방출 제제는 방출조절에 초점을 맞추어 설계되었지만 방출

후의 소장 점막 투과 특성에 관한 보고는 거의 없다. LS는 흰색의 결정성 가루로 메탄올 및 에탄올에는 조금 녹지만 물에는 거의 녹지 않고 투과성이 낮은 생물약제학적 분류체계의 Class IV에 속하는 약물이다.<sup>12-14)</sup> 약물의 용출이 위장관내에서의 흡수의 율속단계로 작용하는 수가 많기 때문에 LS의 흡수를 증진시키기 위해서는 이의 용해성, 용출성을 향상시키고 소장점막 투과성을 개선할 필요가 있다.

따라서 이 연구에서는 난용성인 LS의 용출속도를 향상시키고 소장점막 투과성을 증진시키고자 담즙산염류와 같은 내인성 흡수촉진제가 LS의 용해성과 점막 투과에 미치는 영향을 검토하고 고체분산체를 제조하여 용출-십이지장 점막 투과 특성을 검토하였다.

## 실험방법

### 실험동물

십이지장 적출에 사용한 토끼는 한림실험동물연구소(Hwasung, Gyunggi-do, Korea)에서 구입한 체중 3.0 kg의 건강한 New Zealand White계 암컷을 사용하였다.

### 재료 및 시약

재료로 사용한 LS은 (주)대원제약(경기, 한국)에서 제공받은 제약급을 사용하였고, HPCD(Cargill, Inc., Cedar Rapids, IA, USA), 라우릴황산나트륨(SLS), 콜산나트륨(SC), 데옥시콜산나트륨(SDC), 글리코콜산나트륨(SGC), 글리코데옥시콜산나트륨(SGDC), 타우로콜산나트륨(STC), 타우로데옥시콜산나트륨(STDC) 및 우르소데옥시콜산나트륨(SUDC) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였다. 용제로는 프로필렌글리콜모노라우레이트(PGML, Lauroglycol<sup>®</sup> 90), 프로필렌글리콜모노카프릴레이트(PGMC, Capryol<sup>®</sup> 90), 디에틸렌글리콜모노에틸에테르(DGME, Transcutol<sup>®</sup> P)는 Gatefossé 사(Saint-Priest, France)의 것을 썼고 폴리에틸렌글리콜 (PEG) 200, 300 및 400은 시판 시약급을 사용하였다. 액체크로마토그래프용 메탄올(Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA)을 사용하였고, 물은 정제수를 가지고 초순수제조장치(UHQ-PS, Elgastat, Elga Ltd., Ireland)를 통과시켜 18 M $\Omega$  이상인 것을 썼다. 용출/셀룰로오스막 투과시스템에는 셀룰로오스 튜빙(Dialysis sacks, 250-7U, molecular cut 12,000, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 사용하였고, 기타 시약 및 용매류는 시판 시약급을 사용하였다.

### 기기 및 장치

고속액체크로마토그래프(HPLC) 장치는 펌프(PU-1580

Intelligent HPLC pump, Jasco, Tokyo, Japan), 검출기(UV visible detector SLC-200, Samsung, Korea), 기록장치(Varian 4290 integrator, Palo Alto, CA, USA)로 구성된 것을 사용하였다. 항온진탕수욕장치(정밀도 0.2°C, Karl Kolb 171-100, Steingrund, Germany), 회전식 감압농축기(Büchi Rotavapor R-3000, Flawil, Switzerland), 시차주사 열량분석기(DSC Q10, TA Instruments, New Castle, DE, USA), 용출시험장치(DST-300, Labfine, Anyang, Korea), Valia-Chien 투과시스템(Crown Bio Scientific, Inc., Clinton, NJ, USA), 항온순환기(Brookfield EX-200, Middleboro, MA, USA) 등을 사용하였다.

#### HPLC법에 의한 LS의 정량

칼럼으로 Radial Pak insert (C<sub>18</sub>, Waters Corp., Milford, MA, USA)가 장착된 Luna C<sub>18</sub> 칼럼(5 µm, 4.6×150 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA)을 사용하고, 이동상으로는 메탄올·물혼합액(4:1 v/v)을 사용하였다. 검액의 주입량을 20~40 µL로 하고 이동상을 분당 1.5 mL의 유속으로 유출시켜 파장 238 nm에서 검출하여 얻은 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크면적에 대한 LS의 피크면적비를 구하여 정량하였다. 내부표준액은 심바스타틴의 50% 메탄올 용액(10, 20 µg/mL)을 썼다.

#### 담즙산염류가 LS의 용해도에 미치는 영향

담즙산염을 각각 물에 녹여 5%(w/v)수용액을 조제하였다. 각 담즙산염류 용액에 일정 과량의 LS를 넣은 후 30°C에서 48시간 이상 진탕하여 방치한 후 0.45 µm 멤브레인필터(PVDF, Whatman Inc., Florham Park, NJ, USA)로 여과하고 여액을 50% 메탄올로 적절히 희석한 다음 그 100 µL와 내부표준용액 100 µL를 섞고 그 20 µL를 HPLC에 주입하여 정량하였다.

#### 비수성용제가 LS의 용해도에 미치는 영향

바이알에 여러 종류의 비수성 용제를 각각 1 mL씩 넣고 LS를 일정 과량 넣은 다음 밀전하여 30°C에서 용해평형에 도달할 때까지 48시간 이상 진탕한 후 정지하고 상정액을 공경 0.45 µm의 멤브레인필터로 여과하였다. 그 여액 100 µL를 취하여 50% 메탄올로 적절히 희석한 다음 이 액 100 µL에 내부표준액 100 µL를 넣어 섞은 후 그 20 µL를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 피크면적비를 구하고 LS 표준액(20 µg/mL)의 피크면적비와 비교하여 용해도를 산출하였다.

#### LS의 고체분산체 및 물리적 혼합물의 제조

LS와 SDC, SGC 및 HPCD를 가지고 여러 가지의 질량 비로 각각 달아 메탄올에 녹인 다음 50~55°C에서 일정속도로 회전시켜 감압 농축시킨 후 얻어진 생성물을 105°C에서 1시간 건조시켜 가루로 하고 100호체를 통과시켜 고체분산체로 하였다. 또 위의 성분들을 같은 비율로 달아 가볍게 혼합하여 물리적 혼합물을 제조하였다.

#### 고체분산체의 열적거동 측정

LS, SDC, HPCD 단독, 물리적 혼합물 및 고체분산체를 가지고 30°C에서 200~300°C까지 승온속도 10°C/min, 질소 가스 분당 45 mL의 조건에서 알루미늄 팬을 대조로 시차주사열량분석을 행하였다.

#### 용출시험

LS 단독, 물리적 혼합물, 고체분산체를 가지고 LS로서 20 mg에 해당하는 양을 달아 용출시험을 행하였다. 시험액으로는 0.01 mol/L 인산이수소나트륨완충액(50 w/v% 수산화나트륨액으로 pH를 7.0으로 조정)에 SLS를 0.05%가 되도록 첨가한 액 900 mL를 사용하여 37°C에서 회전수 50 rpm으로 대한약전 용출시험법 제2법으로 조작하였다. 일정 시간마다 3 mL씩을 면전 피펫으로 취하고 즉시 새로운 시험액을 추가하였다. 채취한 용출액은 0.45 µm 멤브레인필터로 여과하고 그 100 µL에 내부표준액 100 µL를 넣어 섞고 HPLC에 주입하여 얻은 피크면적비로부터 누적 용출량을 산출하였다. 따로 LS 단독, LS-SGC(1:9) 물리적 혼합물 및 고체분산체를 가지고 대한약전 용출시험법 제1액(pH 1.2)에 SLS를 0.5%가 되도록 넣은 액을 가지고 같은 방법으로 용출시험을 하였으며, 또 SLS를 넣지 않은 제2액(pH 6.8)을 써서 LS-SGC(1:9) 고체분산체를 가지고 같은 방법으로 용출시험을 하였다.

#### LS의 용출-셀룰로오스막 투과시험

셀룰로오스 튜빙을 하루 밤 물에 적셔 세척하고 이것을 Valia-Chien 투과시스템에 마운팅하였다. 도너 및 리셉터 셀에는 0.01 mol/L 인산염완충액(pH 7.0, SLS 0.05% 함유)을 각각 3.5 mL씩 넣고 약물단독, 물리적혼합물 및 고체분산체를 LS로서 1 mg에 해당하는 양을 달아 넣은 후 6시간 동안 자석식 교반자를 600 rpm으로 교반하면서 37°C 항온을 유지하였다. 경시적으로 리셉터 셀에서 100 µL씩 취하여 내부표준액 100 µL를 넣어 섞고 그 40 µL를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 누적 투과량을 산출하였다.

**LS의 용출-장점막 투과시험**

**담즙산염의 영향**- 신선하게 적출한 토끼의 십이지장 점막을 Valia-Chien 투과시스템에 점막면이 도너 셀을 향하도록 마운팅하고 도너 셀에는 생리식염수에 25 mM 담즙산염의 생리식염수용액 3.5 mL를 넣고 리셉터 셀에는 0.05% SLS 함유 pH 7.4 등장인산염완충액 3.5 mL를 넣었다. 도너 셀에는 고체분산체(LS:HPCD:SDC=1:3:6)를 가지고 LS 1.0 mg에 해당하는 양을 달아 넣은 후 6시간 동안 자석식 교반자를 써서 600 rpm으로 교반하면서 37°C 항온을 유지하였다. 경시적으로 리셉터 셀에서 100 µL씩 취하여 위와 같이 조작하여 누적 투과량을 산출하였다.

**SGC 도너 농도 영향**- SGC의 도너 농도가 LS의 투과에 미치는 영향을 검토하기 위하여 도너 셀에 SGC의 농도를 0~100 mM로 변화시킨 수용액 3.5 mL를 넣고 리셉터 셀에는 0.05% SLS 함유 pH 7.4 등장인산염완충액 3.5 mL를 넣고 도너 셀에는 고체분산체(LS:SGC=1:9)를 가지고 LS 1.0 mg에 해당하는 양을 달아 넣은 다음 위와 같이 조작하여 누적 투과량을 산출하였다.

**고체분산체 중 담즙산 비율의 영향**- 도너 용액으로는 pH 6.8 등장인산염완충액 또는 물을 사용하고 리셉터 용액은 0.05% SLS 함유 pH 7.4 등장인산염완충액을 사용하였다. 고체분산체는 LS에 대한 SGC의 비율이 1:4, 1:9, 1:12.3, 1:19, 1:49 및 1:69인 6종과 LS에 대한 SDC의 비율이 1:19, 1:49 및 1:69인 3종을 써서 LS로서 1.0 mg에 해당하는 고체분산체 가루를 도너 셀에 넣고 위와 같이 조작하여 누적 투과량을 산출하였다.

**결과 및 고찰**

**LS의 분석조건**

이 연구의 용해도 측정, 용출시험 및 투과시험 등에 적용한 HPLC법은 내부표준물질로 심바스타틴(20 µg/mL)을 사용하여 LS 표준액(20 µg/mL)의 분석 크로마토그램을 검토한 결과 LS는 약 7.5분대에, 내부표준물질은 약 3.0분대에 양호하게 분리되었으며 용출액 및 투과액 중의 타 성분들의 영향은 없었다. LS의 농도를 1~20 µg/mL로 변화시켜 크로마토그램을 얻어 피크면적비를 구하여 검량선을 작성하여 양호한 직선성( $y=0.1410x-0.021$ ,  $R^2=0.9997$ )이 얻어졌다.

**담즙산염류가 LS의 용해성에 미치는 영향**

담즙산염은 크고 고정된 평면 구조의 스테로이드 핵과 2~3개의 히드록실기를 가진 생체내 계면활성제로 콜레스테롤, 지질과 많은 지용성 약물 등에 대하여 가용화와 유화작

**Table I-Solubility of LS in 5% Bile Salt Solutions at 30°C**

Bile salts	Solubility (mg/mL)
Water	0.00085±0.00
SC	0.45±0.00
SDC	0.47±0.03
SGC	0.29±0.02
SGDC	0.31±0.00
STC	0.21±0.00
STDC	0.21±0.02
SUDC	0.10±0.01

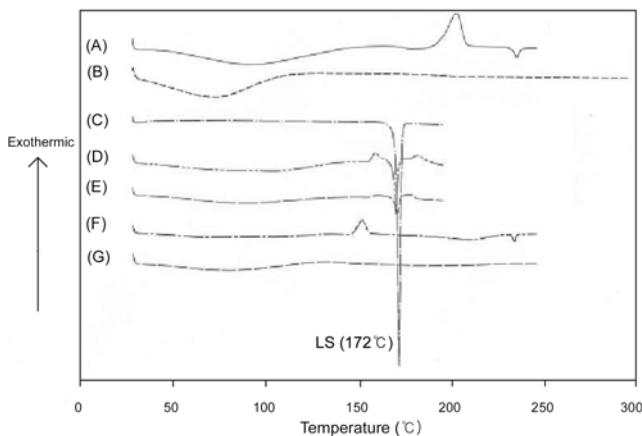
용을 가지고 있다.<sup>15,16</sup> 따라서 LS의 용해성을 향상시키고자 여러 종류의 담즙산염 수용액 (5%w/v)을 조제하여 LS의 용해도를 측정된 결과를 Table I에 나타내었다. LS는 물에서의 용해도가 0.85 µg/mL 정도로 매우 난용성이었으며 여러 종류의 담즙산염의 첨가는 LS의 용해도를 현저히 향상시켰다. 담즙산염의 종류에 따른 LS의 가용화 효과는 SDC>SC>SGDC>SGC>STC ≃ STDC>SUDC 순서로 나타났다. 5% SDC와 SC는 각각 120.6 및 116.1 mM로서 이는 각각의 임계미셀농도(CMC)인 2.35 mM 및 5.90 mM (25°C, 이온강도 0.10)<sup>15,17,18</sup>을 훨씬 초과하는 농도로서 미셀 및 이들의 응집체 형성을 뒷받침한다. 담즙산염류는 7~16개의 분자가 응집하여 미셀을 형성하는 것으로 알려져 있다. 특히 SDC의 미셀이 LS 가용화능이 큰 것은 형성된 미셀의 크기와 비극성 환경이 상대적으로 크고 구조 변화가 적다는 점이 주로 관여하는 것으로 보인다.<sup>18,19</sup> 이와 같이 담즙산염류에 의한 LS의 가용화는 담즙산의 종류에 따라 가용화능의 차이는 있지만 난용성인 LS 주변의 담즙산의 OH 기의 위치와 배향에 따라 정해지는 미셀 크기 및 회합 분자의 수에 의존하는 것으로 생각되며,<sup>20,21</sup> 가용화된 용질은 하나의 미셀 내에 안정적으로 머무는 것이 아니라 여러 미셀 속으로 들락거리는 것으로 추정된다.<sup>22</sup>

**비수성용제 중 LS의 용해도**

수용액에서는 Table I에서와 같이 담즙산염류(25 mM)로는 LS의 용해도를 0.5 mg/mL 이상 가용화시킬 수 없었다. 따라서 여러 종류의 비수성 용제를 선택하여 LS의 용해도를 측정된 결과 Table II에서와 같이 DGME에서 LS의 용해도가 31.5 mg/mL로 가장 높았으며, 용해도의 크기는 DGME>PGMC>PGML>PEG 400 ≃ PEG 300>PEG 200의 순이었다. 한편 심바스타틴의 용해도는 DGME에서 약 222 mg/mL<sup>23</sup>로 보고되었는데 이에 비하여 LS는 매우 녹기 어려운 약물임을 알 수 있다. 그러나 DGME와 PGMC는

**Table II**—Effect of Non-aqueous Vehicles on the Solubility of LS at 30°C

Vehicles	Solubility (mg/mL)
DGME	31.51 ± 5.33
PGMC	20.22 ± 2.59
PGML	13.67 ± 0.32
PEG 400	10.40 ± 0.11
PEG 300	10.32 ± 0.02
PEG 200	6.58 ± 4.48



**Figure 2**—DSC thermograms of various PMs and SDs.

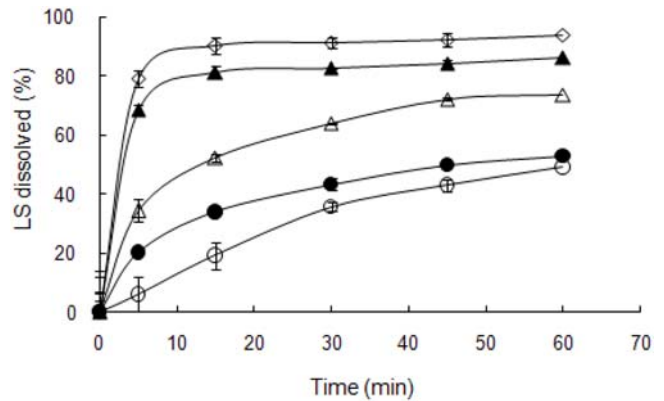
Key: (A), SDC alone; (B), HPCD alone; (C), LS alone; (D) LS-SDC (1:3) PM; (E), LS-SDC-HPCD (1:3:6) PM; (F), LS-SDC (1:3) SD; (G), LS-SDC-HPCD (1:3:6) SD.

0.5 mL 중 LS를 10 mg 이상 녹일 수 있으므로 액상 조성물이 충전된 연질캡슐제의 설계에 응용성이 있다고 생각된다.

**고체분산체의 제조 및 열적 거동**

종래 제제화 수단에 의한 난용성 약물의 가용화 및 용출 증가를 위해 고체분산, 혼합분쇄 및 용매침착 등이 응용되어 왔다. 그 중 고체분산체 형성에 PEG류, 포비돈 등이 담체로 사용되어 왔으며 근래에는 담체로 시클로덱스트린(CD)류를 사용한 복합체 형성이 용출과 생체이용률 향상에 널리 응용되고 있다. 천연의 CD류는 그 자체의 용해성에 제한이 있어 많은 수식화된 CD류가 개발되어 응용되고 있다. 특히 HPCD는 높은 용해성, 포접능 및 안전성을 가지고 있어 제품개발에 널리 응용되고 있다.<sup>24)</sup>

난용성인 LS의 고품 제제설계를 위한 기초적인 정보를 얻고자 충분한 용출성을 확보하기 위하여 LS와 담즙산염 및 HPCD 간의 고체분산체를 제조하여 평가하였다. 이 연구에서는 Table I에서와 같이 LS에 대한 담즙산염류의 가용화



**Figure 3**—Dissolution profiles of LS from various PMs and SDs in 0.01 mol/L phosphate buffer (pH 7.0) containing 0.05% SLS at 37°C (n=3).

Key: ○, LS alone; ●, LS-SDC-HPCD (1:3:6) PM; △, LS-SDC (1:3) PM; ▲, LS-SDC (1:3) SD; ◇, LS-SDC-HPCD (1:3:6) SD.

효과가 가장 큰 것으로 나타난 SDC를 담체로 사용하고 수용성 담체로 HPCD를 사용하여 여러 가지의 비율로 물리적 혼합물과 고체분산체를 제조하였다. LS, SDC 및 HPCD 단독, 물리적 혼합물 및 고체분산체(LS:SDC=1:3, LS:SDC:HPCD=1:3:6)를 가지고 시차주사열량분석을 행하였다. 그 결과 Figure 2에서와 같이 약물 단독은 흡열피크가 172°C 근처에서 나타났으며, 두 가지 조성은 물리적 혼합물도 LS의 흡열피크를 나타내었다. 또한 LS-SDC(1:3) 고체분산체에서는 LS의 흡열피크가 소실되고 153°C에서 미지의 작은 흡열피크를 나타내었으며, LS-SDC-HPCD(1:3:6) 고체분산체에서는 LS의 흡열피크가 완전히 소실되었다. 이러한 결과는 고체분산체에서 LS가 SDC와 같은 담체와 상호작용을 하여 비정질화되었음을 의미한다.

**고체분산체의 용출 거동**

LS 단독, 물리적 혼합물 및 고체분산체를 가지고 LS 20 mg 해당량을 달아 용출시험을 행하고 약물의 누적 용출률을 측정하였다. 용출시험액으로는 0.05% SLS 함유 pH 7.0 인산염완충액을 써서 검체 간의 용출률의 변별력을 높이도록 하였다. 미국약전 제 29개정 Simvastatin Tablets 항의 용출시험액에는 0.5%의 SLS를 함유하도록 하고 있지만 이 농도에서는 가용화 효과가 너무 높아 제네릭 의약품 간에 용출률의 변별력이 매우 낮았으며, 심바스타틴 고체분산체 및 시판 정제를 가지고 여러 농도의 SLS를 함유한 시험액에서 용출시험을 한 결과 0.05% 함유한 액에서 양호한 변별력을 나타내었다.<sup>23)</sup>

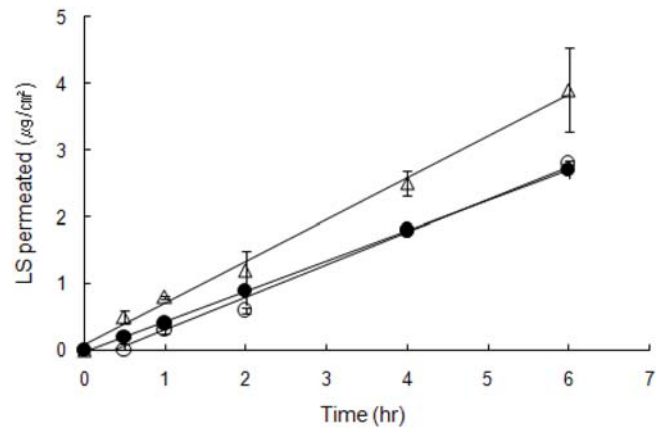
따라서 0.05% SLS 함유 pH 7.0 인산염완충액을 시험액으로 하여 얻은 LS의 용출 프로파일은 Figure 3과 같다. 약

물 단독, LS-SDC(1:3)과 LS-SDC-HPCD(1:3:6)의 물리적 혼합물 및 LS-SDC(1:3)과 LS-SDC-HPCD(1:3:6)의 고체분산체는 30분 후 각각  $35.7 \pm 4.67$ ,  $63.8 \pm 1.35$ ,  $43.2 \pm 0.28$ ,  $82.7 \pm 2.05$  및  $91.4 \pm 2.69$ 의 용출률을 나타내었으며, LS의 용출은 약물 단독 <물리적 혼합물 <고체분산체의 순으로 빨랐다. 한편 LS-SDC(1:3) 물리적 혼합물이 LS-SDC-HPCD (1:3:6)의 물리적 혼합물보다 용출속도가 빠르게 나타났는데 이는 담즙산염인 SDC가 LS의 용출에 영향을 미치기 전에 HPCD에 포접되어<sup>25-27</sup> 그 영향이 감소하였기 때문으로 생각된다. 그러나 고체분산체에서는 SDC 계이든 SDC-HPCD 계이든 LS가 비정질화되어 있어 신속하게 용출되고 HPCD의 존재로 습윤성이 증대하여 2성분 담체계에서 빠른 용출을 나타낸 것으로 추정된다.

한편 약물 단독과 비교하여 LS-SGC (1:9)의 물리적 혼합물과 고체분산체를 가지고 0.05% SLS 함유 제1액(pH 1.2)에서 용출시험을 한 결과 15분대의 용출률은 각각 약 18.9, 6.0 및 22.2%를, 60분대의 용출률은 각각 약 24.9, 14.7 및 22.7%로 용출률이 저조하였다. 이로 볼 때 약물 단독은 SLS 미셀 가용화로 천천히 용출률이 증대한 반면 물리적 혼합물에서는 SGC(pK<sub>a</sub> 4.4)가 pH 1.2의 산성에서 유리산으로 신속하게 석출함으로써 오히려 약물의 용출을 지연시킨 것으로 생각되며 고체분산체에서는 초기에 신속한 용출을 보인 반면 이어서 SGC의 석출로 별다른 용출 증대를 나타내지 못하였다고 생각된다. 또한 SLS를 넣지 않은 제2액에서 LS-SGC(1:9) 고체분산체를 가지고 용출시험을 한 결과 15, 30 및 60분대 용출률이 각각 약 1.7, 5.7 및 8.6%로 매우 저조하였다. 이는 고체분산체라 하더라도 시험액에 SLS를 첨가하지 않은 경우는 SGC의 농도가 0.41 mM로 그 임계미셀농도(CMC, 13 mM) 이하이므로 미셀 가용화라기보다는 습윤 효과에 의해 LS가 천천히 용해된 것으로 보인다. 따라서 담즙산염류와의 고체분산체라 하더라도 CMC 이하의 소량 액에서는 용출이 매우 낮을 것으로 예상된다.

#### LS의 용출/셀룰로오스막 투과 특성

LS 단독, LS-SDC-HPCD (1:3:6) 물리적 혼합물 및 고체분산체를 가지고 셀룰로오스 막을 통한 LS의 투과특성을 경시적으로 검토하였다. 도너 및 리셉터의 시험액으로는 난용성인 LS의 싱크 조건을 확보하기 위하여 0.05% SLS 함유 pH 7.0 인산염완충액 각 3.5 mL씩을 사용하였다. 그 투과 프로파일을 Figure 4에 나타내었다. 이로부터 구한 LS 단독, 물리적 혼합물 및 고체분산체의 투과 플럭스는 각각  $0.52 \pm 0.004$ ,  $0.45 \pm 0.02$  및  $0.62 \pm 0.10 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 이었다. 이러한 결과로 볼 때 LS 단독의 입자도 0.05% SLS의 존재



**Figure 4**—Dissolution-permeation profiles of LS from drug alone (○), LS-SDC-HPCD (1:3:6) PM (●) and LS-SDC-HPCD (1:3:6) SD (△) through a cellulose membrane (n=3). Data points represent the mean±S.D (n=3).

하에서 미셀 가용화로 인하여 빠르게 녹으면서 반투막을 투과하며, SDC와 HPCD를 함유하는 물리적 혼합물로부터 LS의 투과가 약물 단독의 투과속도보다 다소 느리게 투과하는 점으로 보아 도너 액에서 SDC 또는 HPCD에 의한 LS의 미셀 가용화나 복합체 형성은 투과속도를 다소 지연시킬 수 있다. 그러나 약물 단독, 물리적 혼합물 및 고체분산체의 지체시간은 각각  $0.57 \pm 0.20$ ,  $0.0031 \pm 0.20$  및  $0.16 \pm 0.19$  hr로 나타나 약물 단독에 비하여 물리적 혼합물에서는 담즙산염과 HPCD가 빠르게 녹으면서 약물을 담즙산염의 미셀 가용화와 HPCD와의 수용성 복합체 형성에 의해 용해속도를 촉진한 것으로 보이며 고체분산체에서는 도너 액 중에 LS가 급속하게 녹음으로써 초기의 투과량이 급증된 것으로 보인다. 실제로 도너 용액 중 담체가 모두 녹았을 경우 SDC는 41.4 mM이 되고 HPCD의 농도는 29.3 mM이 되어 HPCD가 SDC를 우선적으로 포접한다고 하더라도 잔여의 SDC 만으로도 CMC(2.35 mM) 이상이 되어 LS를 약물 단독일 때보다 빠르게 가용화시킬 것으로 생각된다. 한편 고체분산체에서는 LS의 투과가 매우 신속하였으며 그 플럭스는 약물 단독 및 물리적 혼합물에 비하여 각각 약 1.2 및 1.3배 높았다. 이는 고체분산체의 경우 초기 용출률이 높아 반투막을 통한 투과가 보다 신속하게 일어났기 때문으로 생각된다.

#### 담즙산염이 LS 고체분산체의 용출/십이지장 점막 투과에 미치는 영향

신선하게 적출한 토끼의 십이지장 점막을 Valia-Chien 투과시스템에 점막쪽이 도너 셀을 향하도록 마운팅하고 리셉터 셀에는 싱크 조건을 유지하고자 0.05% SLS 함유 pH

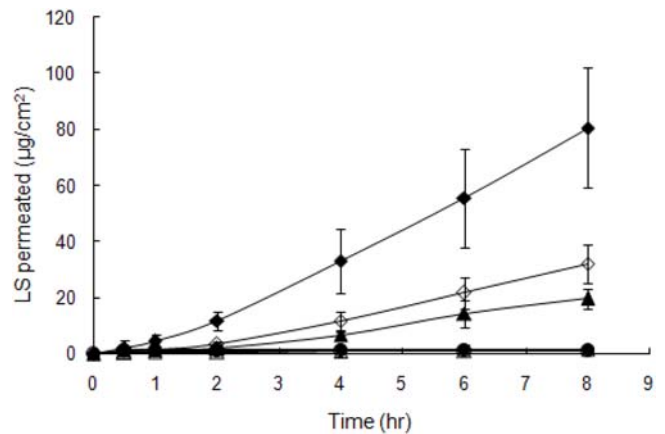
**Table III**—Permeation Parameters of LS through Duodenal Mucosa in the Presence of Various Bile Salts (25 mM)

Bile salts	Flux ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ ) <sup>1)</sup>	T <sub>Lag</sub> (hr)
None	NA <sup>2)</sup>	NA
SC	0.69±0.41	3.29±1.08
SDC	0.87±0.51	3.20±0.85
SGC	0.84±0.46	3.07±1.52
STC	0.68±0.32	3.41±0.54
STDC	0.47±0.17	4.02±0.70

<sup>1)</sup> Data were expressed as the mean±SD (n=3~4). <sup>2)</sup> Not available

7.4 등장 인산염완충액 3.5 mL씩 넣고 도너 셀에는 생리식 염수에 녹인 25 mM 담즙산염 용액을 각각 3.5 mL씩 넣은 다음 LS-HPCD-SDC(1:3:6) 고체분산체를 LS로서 1.0 mg에 해당하는 양을 넣고 용출-십이지장점막 투과시험을 행하였다. 투과 프로파일로부터 구한 플럭스와 지체시간을 Table III에 나타내었다. 담즙산의 종류에 따른 투과 증진 효과의 크기는 SDC=SGC>SC=STC>STDC의 순이었다.

도너 용액에 담즙산을 함유하지 않은 0.05% SLS 용액(싱크 조건)에서는 투과가 거의 일어나지 않았으나, 25 mM의 담즙산염을 함유할 때는 지체시간이 3.07~4.02시간으로 길었으나 시간 의존적으로 LS의 투과량이 증가하였다. 또한 고체분산체의 담체는 수용성이고 LS의 용출은 매우 신속하였으므로 고체분산체가 녹음으로써 기여하는 HPCD 및 SDC의 셀 내의 농도는 각각 0.64 및 4.1 mM로 흡수 촉진제로 검토한 담즙산염의 종류에 관계없이 일정하다. 따라서 담즙산염에 따른 점막 투과속도의 차이는 담즙산염의 종류에 따라 십이지장 점막에 미치는 영향이 다르기 때문으로 생각된다. 지용성인 LS가 십이지장 점막을 통과하기 위해서는 용출 단계를 거쳐 비교반수층인 점액층과 소장 세포의 지질 이중층을 통과하여야 한다. Poelma 등<sup>28)</sup> STC의 CMC(약 8 mM) 이하에서는 *in vitro*에서 돼지 소장 점액의 유동학적 성질(점도)을 변화시켜 농도 증가에 따라 점도가 감소하고 CMC 이상에서는 점액의 점도가 감소하지 않아 담즙산이 점도에 미치는 영향은 미셀 가용화가 아니라고 하였다. 또한 흰쥐 소장의 점액 성분인 육탄당의 장내 유출이 CMC 이하에서는 변화가 없지만 그 이상에서는 농도 의존적으로 증가한다고 하였지만, *in vivo*에서는 지용성 약물의 흡수 장벽이 점액층일 경우 담즙산염의 효과가 배상 세포로부터 점액을 신속히 분비하는 등의 장벽 복구 보상기전에 의해 중화되어 투과 촉진 효과가 유의하지 않음을 보고하였다. 이로 볼 때 지용성인 LS의 십이지장 점막 투과 증진은 점액층에 대한 효과와 더불어 점막 상피세포의 지질 이중층에 대한 담즙산



**Figure 5**—Effect of SGC concentration on the dissolution-duodenal permeation of LS from LS-SGC (1:9) solid dispersion (n=3). Key: ○, 0 mM; ●, 5 mM; △, 10 mM; ▲, 25 mM; ◇, 50 mM; ◆, 100 mM

염의 종류에 따른 차이로 생각된다.

한편 같은 종류의 담즙산염의 첨가 농도가 LS의 투과에 미치는 영향을 검토하기 위하여 도너 셀에 0~100 mM의 SGC 수용액 3.5 mL를 넣고 LS-SGC(1:9) 고체분산체를 가지고 LS로서 1.0 mg(285.7 µg/mL)에 해당하는 양을 넣어 용출-십이지장점막 투과시험을 행하였다. 리셉터 셀에는 싱크 조건을 유지하고자 0.05% SLS 함유 pH 7.4 등장 인산염완충액 3.5 mL를 넣었다. Figure 5의 투과 프로파일에서 보는 바와 같이 SGC를 넣지 않은 경우(실제로는 고체분산체의 용해로 인하여 SGC의 셀 내 농도가 5.27 mM이 됨)는 거의 투과가 일어나지 않았으나 10 mM 농도에서부터 투과가 보이기 시작하여 100 mM로 증가함에 따라 농도 의존적으로 투과가 증진되었다. 투과 프로파일로부터 구한 LS의 플럭스는 SGC의 첨가 농도가 10, 25, 50 및 100 mM일 때 각각 0.18±0.13, 3.03±0.85, 4.08±1.04 및 11.45±3.22 µg/cm<sup>2</sup>/hr이었고 지체시간은 각각 1.1±2.7, 1.4±0.7, 1.4±0.1 및 1.0±0.4 hr로 산출되었다. 이로 볼 때 LS의 십이지장점막 투과는 SGC의 농도 증가에 따라 LS의 투과속도가 현저히 증가하였고 투과가 빠르게 일어났음을 알 수 있다. 농도-플럭스의 관계로부터 구한 직선식은 y=0.121x-0.708로 상관계수(R<sup>2</sup>) 0.987의 양호한 직선성을 보여 주었다. 이 직선식의 x절편으로부터 구한 SGC의 LS 투과개시농도는 5.87 mM로 산출되었다. 이 농도에 고체분산체로부터 용해된 SGC의 농도(5.27 mM)를 합한 SGC의 총 농도는 11.14 mM로서 SGC의 CMC(11.6 mM)<sup>17)</sup>에 매우 근접하였다. 이로 볼 때 LS의 투과는 SGC의 CMC 이상에서 농도 의존적으로 일어남을 알 수 있다.

한편 Poelma 등<sup>28)</sup>은 적출 장관 내 10 mM STC 존재

하에서 단트롤렌과 케토코나졸의 장관 투과는 미셀 가용화에 따른 유리형의 감소로 투과가 감소하였다고 하였다. 이러한 결과는 STC의 농도가 CMC(약 8 mM)에 근접하여 점액층과 지질이중층에 대한 작용이 매우 미약하였기 때문으로 생각된다. 그러나 Sharma 등<sup>14)</sup>은 적출반전장관을 통한 LS(0.87 μM)의 소장 점막 투과에 미치는 SDC(1%)와 SC(1%)의 영향을 비교 시험한 결과 LS의 투과계수를 대조군에 비하여 각각 3.70 및 1.72배 증가시켰다고 하였다. 이들의 연구에서는 LS의 농도(0.35 μg/mL)가 극히 낮으며 SDC 및 SGC의 농도는 각각 24 및 23 mM로 모두 CMC(각각 10 및 13 mM)를 훨씬 초과한다. 담즙산염이 소장 세포막의 친수 및 소수 도메인에 영향을 미치며 특히 CMC 이상에서 LS가 미셀 속에 가두어져 비교반수층인 점액층을 통과하기 유리하도록 하고 미세용모의 상피세포 표면에 장시간 접촉하여 약물분자의 이동성을 감소시킨다.<sup>29)</sup> 농도 증가에 따라 담즙산염이 지질 이중층에 끼워져 막 지질성분을 미셀 가용화하여 제거하고 막 단백질과 복잡한 상호작용을 함으로써 막 성분과 인지질의 높은 유동도를 교란시켜 막 구조를 깨트려 결과적으로 LS의 투과가 담즙산염의 농도 증가에 따라 수동적으로 촉진된 것으로 추정된다.

단백질은 세포 아래 및 세포질 기저 구조의 주성분으로 흡수촉진제들에 의해 교란되면 소장 세포로부터 관강으로 단백질을 유출한다. 단백질 유출량은 화합물의 세포 손상의 직접적인 척도로 생각되고 있다. Chun 등<sup>30)</sup>은 적출 비강, 직장 및 질 점막으로부터 단백질 유출에 미치는 푸시드산 유도체들과 SGC의 영향을 검토하여 보고한 바 있으며 24시간 후 SGC(15 mM)는 대조군에 비하여 단백질 유출량을 각각 10.3, 5.9 및 4.2 배 증가시켰음을 보고한 바 있다. 이상과 같이 본 연구의 담즙산염의 종류에 따라 LS의 투과속도가 다르고 농도 증가에 따라 투과량이 농도 의존적인 증가를 보이는 것은 담즙산 이온의 구조와 농도에 따라 미셀형성분자의 수, 점액층 및 지질 이중층과의 상호작용 등이 다르기 때문인 것으로 생각된다.

**고체분산체 중 LS와 담즙산염의 질량비가 용출-십이지장점막 투과에 미치는 영향**

도너 용액으로 pH 6.8 인산염완충액을 사용하고 리셉터 용액에는 싱크 조건을 유지하기 위하여 0.05% SLS 함유 pH 7.4 인산염완충액을 넣은 조건에서 LS 대 SGC의 질량비를 1:4, 1:9, 1:12.3, 1:19, 1:49 및 1:69 및 LS 대 SDC의 질량비를 1:19, 1:49 및 1:69로 하여 만든 고체분산체를 가지고 LS로서 1.0 mg에 해당하는 양을 넣어 용출-십이지장점막 투과시험을 행하였다. 그 결과 LS 대 SGC의

**Table IV—Effect of LS-SGC or LS-SDC Ratios in Solid Dispersion on the Permeation rates of LS through Duodenal Mucosa**

Ratio of bile salts (w/w)	Flux (μg/cm <sup>2</sup> /hr)	T <sub>Lag</sub> (hr)
LS:SGC <sup>1)</sup> =1:49	0.76±0.17	2.36±0.48
LS:SGC=1:69	1.88±0.35	0.82±0.33
LS:SDC <sup>2)</sup> =1:49	2.56±0.55	1.06±0.12
LS:SDC=1:69	4.30±1.46	0.78±0.08

Data were expressed as the mean±S.D. (n=3).

<sup>1)</sup> Donor solution for LS-SGC solid dispersions was pH 6.8 phosphate buffer.

<sup>2)</sup> Donor solution for LS-SDC solid dispersions was water.

비율이 1:19 이하에는 투과가 거의 일어나지 않았으나 1:49 이상에서는 Table IV에서와 같이 투과속도가 현저히 증가하였다. 1:19의 비율 이하에서는 SGC가 완충액에 모두 녹았을 경우 11.1 mM 이하로 SGC의 CMC(11.6 mM) 이하가 되어 용출-십이지장점막 투과량이 매우 낮고 불균일하였으며 농도 의존성이 관찰되지 않았다. 그러나 1:49 및 1:69의 담즙산염 고체분산체는 각각 셀내 SGC의 농도가 28.6 및 40.3 mM로서 CMC 이상이 되며 투과 플럭스는 각각 0.76±0.17 및 1.88±0.35 μg/cm<sup>2</sup>/hr이었다.

한편 LS-SDC 고체분산체는 그 비율이 1:19 및 1:49인 것을 가지고 pH 6.8 인산염완충액을 도너 용액으로 하여 용출-투과시험을 한 결과 그 비율에 관계없이 투과량(μg/cm<sup>2</sup>) 시간이 경과함에 따라 초기 1시간까지 급격히 감소한 다음 2시간부터는 평형 농도에 근접하였다. 1:19인 고체분산체의 누적 투과량은 0.5, 1, 2, 4, 6시간대에 각각 3.12±2.58, 1.05±1.19, 0.73±0.70, 0.73±0.85 및 0.76±0.78 μg/cm<sup>2</sup>이었으며, 1:49인 경우도 각각 2.03±1.89, 1.47±1.82, 1.27±1.63, 1.25±1.50 및 1.19±1.39 μg/cm<sup>2</sup>이었다. 이러한 투과량의 경시적인 감소는 도너용액 측에서는 pH 6.8 인산염완충액에서 고체분산체로부터 약물이 신속하게 용출된 후 이어 SDC(pK<sub>a</sub> 6.58)의 이온전하가 부분적으로 중화되고 미셀 크기가 급격히 커져 겔을 형성함으로써<sup>31)</sup> 유리 약물 농도의 감소와 더불어 미셀 내 약물의 확산감소가 일어나며, 리셉터 셀에서는 초기의 높은 농도로 투과된 LS가 도너 용액 측으로 수동확산에 의해 역투과가 일어났기 때문으로 설명된다.

따라서 인산염 완충액에서의 SDC의 겔화를 방지하고자 물을 도너 용액으로 하여 투과시험을 행하였다. 그 결과 1:49 및 1:69의 LS-SDC 고체분산체로부터 LS의 용출 및 투과는 농도 및 시간 의존적으로 일어났으며 이로부터 구한 플럭스는 각각 2.56±0.55 및 4.3±1.46 μg/cm<sup>2</sup>/hr로 고체분산체 중 SDC의 비율이 증가할수록 투과량이 증대하였고



SGC계보다 투과촉진 효과가 더 컸다.

소장 내 담즙이 결핍되면 지용성 비타민 흡수가 저해되며<sup>32)</sup> 콜레스테롤의 흡수를 위해서는 먼저 미셀 가용화가 일어나야 하고<sup>33)</sup> 고분자 미셀 내의 비타민 K도 담즙산이 흡수를 촉진하는 것으로 보고되었다.<sup>29)</sup> 소장 내 담즙산염의 양은 약 3 g(6 mM) 정도로 존재하여 bile salts pool이라고 부르고 있다. 소장 내 담즙 성분의 종류와 농도는 식이 내용과 식이 회수, 복용수량, 장간순환(6~10회) 및 담즙분비 시점, 위장관 내용물에서의 흡착 등에 따라 크게 변동한다.<sup>34)</sup> 이러한 점을 고려하면 LS와 같은 난용성-난흡수성 약물의 생체이용률은 복용시점에 따라 소장내 담즙산염의 농도와 관련하여 그 변동이 매우 클 것으로 예측된다. 따라서 이러한 변동을 줄이기 위해서는 외부로부터 공급하는 담즙산염 고체분산체의 장용 서방출 제제를 생각할 수 있다. 고체분산체 중 담즙산염은 위를 통과하는 동안 위산 산성에서 침전으로 석출하여<sup>35)</sup> 가용화능을 잃어버리므로 중성-약알칼리성인 십이지장 상부에서 방출하도록 설계할 필요가 있다.

이상과 같은 결과로부터 지용성인 LS의 소장 흡수가 소장내 담즙산염의 농도와 담즙분비량에 의해 크게 영향을 받을 수 있음을 예측할 수 있으며 담즙산염의 CMC 이상에서 LS의 가용화가 일어나고 소장 점막의 비교반수층인 점액층과 미세 용모의 상피세포의 지질 이중층을 통과하여 흡수가 일어남을 알 수 있다.

## 결 론

이상의 실험결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 수용액 중 담즙산염류가 LS의 가용화에 미치는 효과는 SDC>SC>SGDC>SGC>STC≃STDC>SUDC의 순서로 나타났으며, 비수성용제의 가용화 효과는 DGME>PGMC>PGML>PEG 400≃PEG 300>PEG 200 순이었다.

2. LS-SDC(1:3) 및 LS-SDC-HPCD(1:3:6) 고체분산체는 열분석으로부터 LS가 완전히 비정질화되어 있었으며, 0.05% SLS 함유 pH 7.0 인산염완충액에서 약물 단독이나 물리적 혼합물에 비하여 매우 빠르게 용출하였다.

3. 용출-셀룰로오스막 투과시험에서 담즙산염이나 HPCD는 LS의 투과에 다소의 영향이 있었으나 고체분산체에서는 LS의 빠른 용출로 인하여 약물 단독 및 물리적 혼합물보다 각각 약 1.2 및 1.3배 빠르게 투과하였다.

4. 용출-십이지장점막 투과시험에서 담즙산염류는 그 종류에 따라 LS의 투과속도 증대에 차이가 있었으며 CMC 이상에서 농도 의존적으로 투과속도를 증대시켰다.

따라서 흡수부위에서 담즙산염류의 농도가 CMC 이상이

될 수 있도록 고체분산체화함으로써 난용성이면서 난흡수성인 LS의 용출과 소장 점막투과 증진에 유용한 수단이 될 것으로 기대하며 담즙산염류는 다른 생물약제학적 분류체계의 Class IV에 해당하는 약물들의 생체이용률 증진에 유용한 담체가 될 것으로 생각한다.

## 감사의 말씀

이 논문은 2006년도 동덕여자대학교 연구년제도 지원에 의해 이루어졌으며 이 연구를 보조한 윤선정 양과 이경민 양에게 감사한다.

## 참고문헌

- 1) A.W. Alberts, Discovery biochemistry and biology of lovastatin, *Am. J. Cardiol.*, **62**, J10-J15 (1998).
- 2) A. Corsini, S. Bellosta, R. Baetta, R. Fumagalli, R. Paoletti and F. Bernini, New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins, *Pharmacol. Ther.*, **84**, 413-428 (1999).
- 3) Y. Shitara and Y. Sugiyama, Pharmacokinetic and pharmacodynamic alterations of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors: drug-drug interactions and interindividual differences in transporter and metabolic enzyme functions, *Pharmacol. Ther.*, **112**, 71-105 (2006).
- 4) R.H. Bradford, C.L. Shear, A.N. Chremos, C.A. Dujovne, F.A. Franklin, R.B. Grillo, J. Higgins, A. Langendörfer, D.T. Nash, J.L. Pool and H. Schnaper, Expanded clinical evaluation of lovastatin (EXCEL) study results: Two-year efficacy and safety follow-up, *Am. J. Cardiol.*, **74**, 667-673 (1994).
- 5) J.R. Crouse III, P. Lukacsko and R. Niecestro, The Lovastatin Extended-Release Study Group, Dose response, safety and efficacy of an extended-release formulation of lovastatin in adults with hypercholesterolemia, *Am. J. Cardiol.*, **89**, 226-229 (2002).
- 6) M.H. Davidson, P. Lukacsko, J.X. Sun, G. Phillips, E. Walters, A. Sterman, R. Niecestro and L. Friedhoff, A multiple-dose pharmacodynamic, safety and pharmacokinetic comparison of extended- and immediate-release formulations of lovastatin, *Clin. Ther.*, **24**, 112-125 (2002).
- 7) R.W. Wang, P.H. Kari, A.Y. Lu, P.E. Thomas, F.P. Guengerich and K.P. Vyas, Biotransformation of lovastatin: IV. Identification of cytochrome P450 3A proteins as the major enzymes responsible for the oxidative metabolism of lovastatin in rat and human liver microsomes, *Arch. Biochem. Biophys.*, **290**, 355-361 (1991).
- 8) T. Prueksartanont, R. Subramanian, X. Fang, B. Ma, Y. Qiu and J.H. Lin, Glucuronidation of statins in animals and humans: a novel mechanism of statin lactonization, *Drug*

- Metab. Dispos.*, **30**, 505-512 (2002).
- 9) E. Wang, C.N. Casciano, R.P. Crement and W.W. Johnson, HMG-CoA reductase inhibitors (statins) characterized as direct inhibitors of P-glycoprotein, *Pharm. Res.*, **18**, 800-806 (2001).
  - 10) G.A. McClelland, R.J. Stubbs, J.A. Fix, S.A. Pogany and G.M., Zentner, Enhancement of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitor efficacy through administration of a controlled-porosity osmotic pump dosage form. *Pharm. Res.*, **8**, 873-876 (1991).
  - 11) B.K. Kang, B.Y. Yoon, K.S. Seo, S.Y. Jeung, J.H. Kil, G. Khang, H.B. Lee and S.H. Cho, Preparation of solid dosage form containing SMEDDS of simvastatin by microencapsulation. *J. Kor. Pharm. Sci.*, **33**, 121-127 (2003).
  - 12) G.L. Amidon, H. Lennernas, V.P. Shah and J.R. Crison, A theoretical basis for biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability, *Pharm. Res.*, **12**, 413-420 (1995).
  - 13) M.V.S. Varma, S. Khandavilli, Y. Ashokraj, A. Jain, A. Dhanikula, A. Sood, N.S. Thomas, O.P. Pillai, P. Sharma, R. Gandhi, S. Agrawal, V. Nair and R. Panchagnula, Biopharmaceutic classification system: a scientific framework for pharmacokinetic optimization in drug research, *Curr. Drug Metab.*, **5**, 375-388 (2004).
  - 14) P. Sharma, M.V.S. Varma, H.P.S. Chawla and R. Panchagnula, Absorption enhancement, mechanistic and toxicity studies of medium chain fatty acids, cyclodextrins and bile salts as peroral absorption enhancers, *Il Pharmacol*, **60**, 884-893 (2005).
  - 15) H. Sugioka and Y. Moroi, Micelle formation of sodium cholate and solubilization into the micelle, *Biochim. Biophys. Acta*, **1394**, 99-110 (1998).
  - 16) R. Ninomiya, K. Matsuoka and Y. Moroi, Micelle formation of sodium deoxycholate and solubilization into the micelles: comparison with other unconjugated bile salts, *Biochem. Biophys. Acta*, **1634**, 116-125 (2003).
  - 17) S. Reis, C.G. Moutinho, C. Matos, B. de Castro, P. Gameiro and J.J.F.C. Lima, Noninvasive methods to determine the critical micelle concentration of some bile acid salts, *Anal. Biochem.*, **334**, 117-126 (2004).
  - 18) U. Subuddhi and A.K. Mishra, Micellization of bile salts in aqueous medium: a fluorescence study, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **57**, 102-107 (2007).
  - 19) A. Coello, F. Mejjide, E.R. Ninez and J.V. Tato, Aggregation behavior of bile salts in aqueous solutions, *J. Pharm. Sci.*, **85**, 9-15 (1996).
  - 20) K. Matsuoka, M. Maeda and Y. Moroi, Micelle formation of sodium glyco- and taurocholates and sodium glyco- and taurodeoxycholates and solubilization of cholesterol into their micelles, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **32**, 87-95 (2003).
  - 21) K. Matsuoka, M. Suzuki, C. Honda, K. Endo and Y. Moroi, Micellization of conjugated chenodeoxy- and ursodeoxycholates and solubilization of cholesterol into their micelles: comparison with other four conjugated bile salts species, *Chem. Phys. Lipids*, **139**, 1-10 (2006).
  - 22) N. Yoshida, Y. Moroi, R. Humphry-Baker and M. Graetzel, Dynamics for solubilization of naphthalene and pyrene into n-decyltrimethylammonium perfluorocarboxylate micelles, *J. Phys. Chem. A*, **106**, 3991-3997 (2002).
  - 23) N.Y. Lee and I.K. Chun, Enhanced dissolution of simvastatin by solid dispersion with water-soluble carriers, *Dongduk Pharm. Res.*, **12**, 1-12 (2008).
  - 24) S. Gould and R.C. Scott, 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD): a toxicological review, *Food Chem. Toxicol.*, **43**, 1451-1459 (2005).
  - 25) X. Tan and S. Lindenbaum, Studies on complexation between  $\beta$ -cyclodextrin and bile salts, *Int. J. Pharm.*, **74**, 127-1353 (1991).
  - 26) S. Comini, P. Olivier, M. Riottot and D. Duhamel, Interaction of  $\beta$ -cyclodextrin with bile acids and their competition with vitamins A and D<sub>3</sub> as determined by <sup>1</sup>H-NMR spectrometry, *Clin. Chem. Acta*, **228**, 181-194 (1994).
  - 27) M.A. Vandelli, G. Salvioli, A. Mocchi, R. Panini, L. Malmusi and F. Forni, 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin complexation with ursodeoxycholic acid, *Int. J. Pharm.*, **118**, 77-83 (1995).
  - 28) F.G.J. Poelma, R. Breas and J.J. Tukker, Intestinal absorption of drugs. IV. the influence of taurocholate and L-cysteine on the barrier function of mucus, *Int. J. Pharm.*, **64**, 161-169 (1990).
  - 29) P.M. van Hasselt, G.E.P.J. Janssens, T.K. Slot, M. Van der Ham, T.C. Minderhoud, M. Talelli, L.M. Akkermans, C.J.F. Rijcken and C.F. van Nostrum, The influence of bile salts on the oral bioavailability of vitamin K encapsulated in polymeric micelles, *J. Contr. Rel.*, **133**, 161-168 (2009).
  - 30) I.K. Chun, D.D. Kim, Y.J. Wang and Y.W. Chien, Permeation enhancement of methionine enkephalin by combinations of enzyme inhibitors and enhancers, *S.T.P. Pharma Sci.*, **6**, 148-156 (1996).
  - 31) M.A. Hammad and B.W. Müller, Increasing drug solubility by means of bile salt-phosphatidylcholine-based mixed micelles, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **46**, 361-367 (1998).
  - 32) L. Forsgren, Studies on the intestinal absorption of labelled fat-soluble vitamins (A, D, E, and K) via the thoracic-duct lymph in the absence of bile in man, *Acta Chir. Scand. Suppl.*, **399**, 1-29 (1969).
  - 33) L.A. Woollett, Y. Wang, D.D. Buckley, L. Yao, S. Chin and N. Granholm, Micellar solubilisation of cholesterol is essential for absorption in humans, *Gut*, **55**, 197-204 (2006).
  - 34) A.F. Hofmann, Intestinal absorption of bile acids and biliary constituents: the intestinal component of the enterohepatic circulation and the integrated system. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract* (3rd ed., vol. 2), edited by Johnson L.R., Alpers, D.H., Jacobson, E.D and Walsh, J.H., New York, Raven, 1994, p. 1845-1865.
  - 35) A.F. Hofmann and K.J. Mysels, Bile acid solubility and precipitation in vitro and in vivo: the role of conjugation, pH and Ca<sup>2+</sup> ions, *J. Lipid Res.*, **33** 617-626 (1992).