

Piroxicam-Cyclodextrin 포접화합물의 현탁제에 대한 생체내 이용율의 연구

박선희[†] · 이창훈 · 최영욱 · 박기배 · 김종갑
중앙대학교 약학대학
(1990년 9월 15일 접수)

Bioavailability Studies on Suspension of Inclusion Complexes of Piroxicam with Cyclodextrins

Sun Hee Park, Chang Hoon Lee, Young Wook Choi,
Gee Bae Park and Johng Kap Kim
College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea
(Received Sep. 15, 1990)

Inclusion complexes of piroxicam with α , β and γ -cyclodextrins were prepared and suspended to enhance the bioavailability of piroxicam. A quantitative analysis was employed HPLC for the determination of piroxicam in the rabbit serum after a single oral dose in suspension of piroxicam and each of inclusion complexes of piroxicam with α , β and γ -cyclodextrins, respectively. The bioavailability and serum level of piroxicam exhibited the highest in piroxicam clathrated β -cyclodextrin than both piroxicam and the other complexes administered, and the total area under the curve of serum concentration versus time for their inclusion complexes were larger than that of piroxicam.

서 론

약물을 생체내에 투여시 약효를 최대로 발현시키기 위하여 약물투여방법 및 제형을 개발하고자 하는 노력은 끊임없이 계속되어 왔다.^{1,2)}

경구용 고형제제의 유효성을 평가하기 위해서는 흡수속도 및 배설속도 등이³⁻⁵⁾ 생체내 이용율을 계량하는 척도로써 이용되고 있으나 제제화에서 첨가제의 선택은 생체내 이용율을^{6,7)} 좌우하는 반면 제제의 안전성에 미치는 영향도 있어서 약제등가치를 위해서 중요하다. 즉, 경구용제제에 있어서도 동일한 성분 및 함유량을 함유하는 동일한 제형이라 할지라도 지용성, 분자량, 용해속도, 안정성, 단백질결합성 등의 약품의 물성과 첨가물⁸⁾, 점도, 분산된 입자도⁹⁾

등의 인자에 의해 생체내 이용율이 달라질 수 있다.

본 연구는 소염제로써 평가받고 있는 piroxicam¹⁰⁻¹³⁾이 주로 주사제로 이용되고 있음을 감안하여 그의 sodium염으로써 이용되는 약제의 액성 및 수용액의 제조난이 있음을 알고, piroxicam의 용해도를 증가시키기 위하여 포접화합물을 만들고 생체내 이용율을 비교한 내용이다. piroxicam은 물에 난용성^{14,20)}이고 열·빛에 불안정하다.²¹⁻²⁴⁾ 그리고 소화관에서의 위장장애^{25,26)}를 개선하기 위하여 α , β 및 γ -cyclodextrin으로 각각 포접화합물을 제조하고 일차로 이들을 경구투여하여 시간추이에 따른 혈중농도 변화율로 생체내 이용율과 약동력학적차원에서 piroxicam과 비교검토했으며 여기서 약간의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

[†] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

실험방법

1. 시약 및 실험재료

- Piroxicam(Sam Sung Pharm., Korea)
- α -Cyclodextrin(Nihon Shokuhin Kako, Japan)
- β -Cyclodextrin(Nihon Shokuhin Kako, Japan)
- γ -Cyclodextrin(Nihon Shokuhin Kako, Japan)
- Methanol(HPLC grade, Baker, U.S.A.)
- Acetone(E.P., Kanto, Japan)
- Citric acid, anhydrous(E.P., Junsei, Japan)
- Anhydrous sodium phosphate, dibasic(E.P., Kanto, Japan)
- Xylene(E.P., Junsei, Japan)
- Ethyl alcohol(G.R., Duksan Pharm., Korea)

2. 실험기기

- Centrifuge(Model H-12 A, Kokusan Ensinki Co., Japan)
- Millipore membrane filter(No. 0387, Gelman Sci. Inc., U.S.A.)
- High performance liquid chromatography(Model 5000, Varian, U.S.A.)
- Vortex mixer(Model C-MF, Jell Ind. Co., Japan)
- Thermostatic water bath(Model KISB-55, Hwa Sueng Ind. Co., Korea)

3. 시료의 제조

α -cyclodextrin 81 mg, β -cyclodextrin 481 mg과 γ -cyclodextrin 72 mg을 각각 증류수 50 ml에 녹이고, 각각 piroxicam 50 mg을 가하고 20°C에서 48시간 서서히 교반한 후 동결건조하여 백색의 분말을 얻었다.

4. 실험 방법

1) 실험 동물

체중이 1.7~2.3 kg되는 건강한 New Zealand White계 웅성가토를 사용하였다. 1군을 3마리로 하여, 시료를 투여하기 수일전부터 동일한 조건하에서 일정한 배합사료를 주었으며 시료를 투여하기전 24시간부터 절식시켰다. 단, 절식에도 물만은 자유롭게 마실 수 있게 하였다.

2) Piroxicam의 검량선 작성²⁷⁾

piroxicam 10 mg을 정확히 명량하여 10 ml measuring flask에 넣고 methanol로 용해시켜 정확히 표시까지 맞춘다. 이 용액을 각각 5, 10, 20, 30, 40 및 50 ml씩 취한 후 50 ml volumetric flask에 넣고 다시 methanol로 정확히 표시까지 맞춘다. 시료용액 각각을 5 ml씩 따로 취하여 시험관에 넣고 각 시험관에 가트의 혈청 20 ml를 넣은 후 다시 methanol 3 ml씩을 각각 채워서 계대희석시켜 piroxicam으로써 5, 10, 20, 30, 40 및 50 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 가 되는 검액을 조제한다. 이들 시험관을 vortex mixer로 5분간 진탕 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리 후 상등액을 취해 0.45 μm millipore filter를 사용하여 여과했으며 여액을 표준 검액으로하여 이중 20 μl 를 취해 HPLC로 정량하였다.

3) Piroxicam-Cyclodextrin 포접화합물의 투여

투여 방법은 가토를 고정대로 묶어놓고 입을 약물 투여용 막대기로 고정시킨 후 물 10 ml가 들어있는 주사기로 2~3 ml의 물을 먼저 입에 주입시켰다.

piroxicam은 20 mg/kg의 양을 그리고 piroxicam에 대한 각각의 α , β 및 γ -cyclodextrin 포접화합물은 piroxicam으로써 20 mg/kg에 해당되는 양을 0.1% tween 80 용액으로 현탁시켰다. Piroxicam 및 각각의 piroxicam의 α , β 및 γ -cyclodextrin 현탁액을 catheter를 이용해 위에 직접 주입시켰다.

4) 혈액의 채취²⁹⁻³²⁾

토끼의 귀 부분을 xylene으로 자극하여 정맥을 확장시킨 다음 상법에 따라 채혈하였다. 이때 필요하면 따뜻한 물로 귀 부분을 가온 하였다.

일차는 투약전 5분되는 때에 채혈을 하고 투여 후부터는 아래의 배정시간에 따라 정맥으로 2 ml씩의 혈액을 채취한 후 채혈관에 넣고 약 20분간 방치하여 혈액을 응고시켰다. 혈액채취시간은 시료들의 투약시간을 기점으로 하여 각 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 및 24시간이 되는 때에 실시하였다.

5) 혈청중 Piroxicam의 정량³³⁾

약물을 투여한 후 각 가토에서 얻은 정맥으로부터 채취한 혈액 2 ml를 20분간 방치 후 혈액응고시켜 상등액을 취하여 계단백시키기 위한 목적으로 혈청 1 ml당 methanol 4 ml를 넣고 vortex mixer로 5분간 진탕 후 3000 rpm으로 15분간 원심분리하였다. 이하 2)항의 방법에 따라 동일하게 조작하여 처리한 후

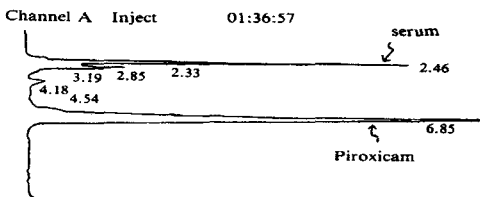


Fig. 1. Typical chromatogram of piroxicam in serum. HPLC conditions: mobile phase, 구연산·인산완충액: MeOH (60:40); flow rate, 1.2 ml/min; column, μ -bondapak C₁₈; injection volume, 20 μ l; UV detector wavelength, 254 nm.

HPLC로 정량하였다.

결과 및 고찰

1. Piroxicam의 정량

Fig. 1에서와 같이 piroxicam을 254 nm에서 HPLC로 정량할 때 분리상태는 양호하였으며 이로 부터 얻어진 각 농도에 따른 검량선은 Fig. 2와 같다.

2. Piroxicam-Cyclodextrin 포접화합물 부여 후의 piroxicam 혈중농도

가토를 대상으로 각각 piroxicam- α , β 및 γ -cyclodextrin 포접화합물의 현탁액을 경구투여 후에 얻은

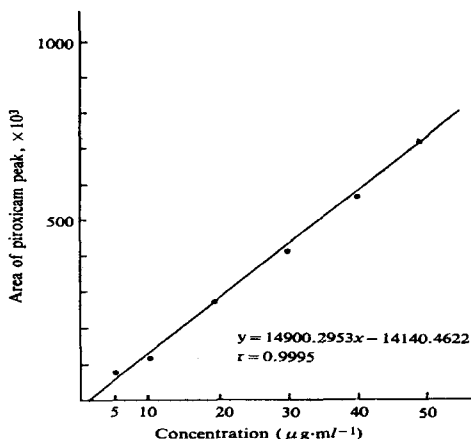


Fig. 2. Calibration curve of piroxicam concentration in serum of rabbit versus peak area of HPLC.

piroxicam으로써 정량된 혈중 농도를 표시하면 Table I 및 Fig. 3과 같다.

식 1)의 NELSON-WAGNER method에 따라 piroxicam 및 piroxicam- α , β 및 γ -cyclodextrin 각각에 대한 포접화합물 현탁액의 흡수백분율(% ABS)을 시간에 따라 정리하면 Fig. 4와 같다.

Table I. Serum concentration (μ g·ml⁻¹) of piroxicam in rabbits after a single oral dose of 20 mg·kg⁻¹ as piroxicam for both piroxicam and its inclusion complexes with α -, β -, and γ -cyclodextrins.

Material	Time (hr)								
	0.5	1	2	4	5	6	8	12	24
Piroxicam	9.37 ± 0.93	11.00 ± 1.20	12.07 ± 1.66	16.46 ± 2.81	18.67 ± 1.42	16.25 ± 2.50	10.65 ± 1.74	6.17 ± 3.35	1.44 ± 1.63
Piroxicam- α -cyclodextrin	7.81* ± 2.09	12.02 ± 1.58	18.69* ± 2.42	15.78 ± 1.45	12.55 ± 1.47	10.41 ± 3.93	9.19 ± 2.31	1.07 ± 2.09	2.63* ± 4.01
Piroxicam- β -cyclodextrin	29.43** ± 1.33	41.57** ± 2.76	46.67** ± 1.45	33.95* ± 1.34	24.52 ± 2.00	17.97 ± 1.62	11.23 ± 1.45	5.96 ± 1.07	1.84* ± 2.97
Piroxicam- γ -cyclodextrin	12.28* ± 3.15	14.09* ± 1.76	19.37* ± 1.18	25.86* ± 2.85	22.21 ± 2.89	16.72 ± 1.53	10.35 ± 1.14	6.24 ± 2.29	1.27 ± 1.97

Each value represents the Mean \pm S.E. of 3 rabbits.

* Significant at $p < 0.05$ vs. piroxicam

** Significant at $p < 0.01$ vs. piroxicam

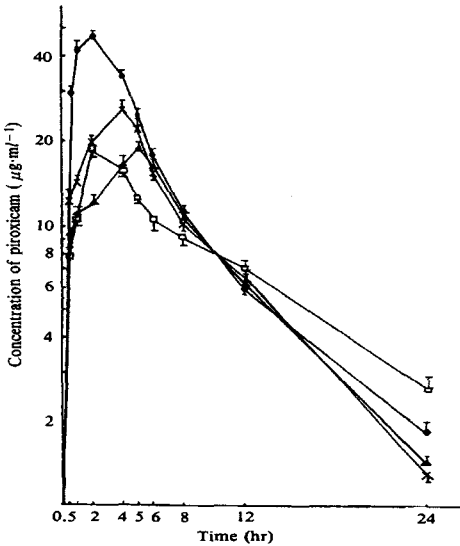


Fig. 3. Semi-log plot of mean serum concentrations of piroxicam versus time after a single oral dose for both piroxicam and its inclusion complexes with α -, β -, and γ -cyclodextrins.

Key; \blacktriangle piroxicam
 \square piroxicam- α -cyclodextrin
 \bullet piroxicam- β -cyclodextrin
 \times piroxicam- γ -cyclodextrin

$$\% \text{ ABS} = \frac{A_t}{A_{\infty}} \times 100$$

$$= \frac{C_t + K_e \cdot \int_0^t C dt}{K_e \cdot \int_0^{\infty} C dt} \times 100 \quad (1)$$

Key ; $A_t = [AUC]_0^t = \int_0^t C_p dt$
 $A_{\infty} = [AUC]_{\infty} = \int_0^{\infty} C_p dt$
 $K_e =$ elimination rate constant
 $C_t =$ serum concentration at time t .

3. 생체내 이용률

이상의 실험결과로부터 얻어진 생체내 이용률의 매개변수 개별치를 정리해보면 Table II와 같다.

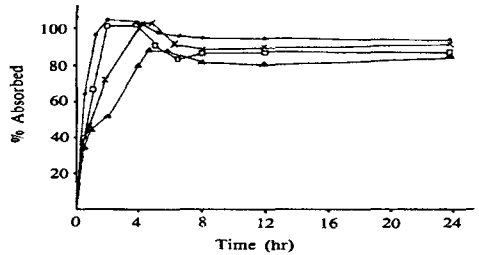


Fig. 4. Plot of % absorbed versus time by Nelson-Wagner method for both piroxicam and its inclusion complexes with α -, β -, and γ -cyclodextrins.

Key; \blacktriangle piroxicam
 \square piroxicam- α -cyclodextrin
 \bullet piroxicam- β -cyclodextrin
 \times piroxicam- γ -cyclodextrin

piroxicam 및 piroxicam- α , β 및 γ -cyclodextrin 포접화합물을 현탁제로 하여 각각을 가토에 경구투여한 후 일정시간마다 혈액중의 piroxicam 농도를 측정할 결과 piroxicam의 β 및 γ -cyclodextrin 포접화합물 투여군이 piroxicam보다 높은 평균혈중 농도를 나타내었다(Table I 및 Fig. 3). 이때 piroxicam 투여군은 약 T_{max} 5시간에 C_{max} $18.670 \mu g \cdot ml^{-1}$ 를 나타내었고, piroxicam- α -cyclodextrin 투여군은 T_{max} 2시간이며 이때 C_{max} $15.783 \mu g \cdot ml^{-1}$ 이고, piroxicam- β -cyclodextrin 투여군은 T_{max} 2시간에 C_{max} $46.670 \mu g \cdot ml^{-1}$, 그리고 piroxicam- γ -cyclodextrin 투여군은 T_{max} 4시간에 C_{max} 는 $25.864 \mu g \cdot ml^{-1}$ 로 나타났다. 즉, piroxicam- β -cyclodextrin 포접화합물보다는 piroxicam- β -cyclodextrin 포접화합물이 이용성이기 때문에 흡수의 율속 단계인 용출이^{37,38)} 빨리 진행될 결과라고 생각된다.

최고 혈중농도 이후의 배설곡선으로부터 최소자승법에 의해 배설속도 정수(K_e)를 구한 결과 piroxicam은 $0.1307 hr^{-1}$ 인 반면 piroxicam- α -cyclodextrin은 $0.0834 hr^{-1}$, piroxicam- β -cyclodextrin은 $0.1390 hr^{-1}$, 그리고 piroxicam- γ -cyclodextrin은 0.1448

Table II. Pharmacokinetic parameters of piroxicam and its inclusion complexes with α -, β -, and γ -cyclodextrins

Material	K_a	$T_{1/2}$	K_e	T_{max}	C_{max}	AUC total
Piroxicam	0.1177	9.3027	0.1327	5	18.670	283.983
Piroxicam- α -cyclodextrin	0.6391	8.3063	0.0834	2	15.783	267.107
Piroxicam- β -cyclodextrin	0.6949	4.9867	0.1390	2	46.670	580.171
Piroxicam- γ -cyclodextrin	0.3076	4.7849	0.1448	4	25.864	357.244

Data are calculated from the value of Table I on the basis of one-compartment model. K_e , rate constant for elimination (hr^{-1}); $T_{1/2}$, biological half-life (hr); K_a , rate constant for absorption (hr^{-1}); AUC, area under the serum concentration-time curve ($\mu g \cdot hr \cdot ml^{-1}$).

hr^{-1} 로서, piroxicam보다 piroxicam- α -cyclodextrin은 약 1.5배 늦게 배설되고 piroxicam- β -cyclodextrin은 거의 비슷하며 piroxicam- γ -cyclodextrin은 1.1배 배설이 늦음을 알 수 있다. 또, 배설속도 정수로부터 구한 생물학적 반감기($T_{1/2}$)의 경우는 piroxicam은 5.3027 hr, piroxicam- α -cyclodextrin은 8.3063 hr, piroxicam- β -cyclodextrin은 4.986 hr 그리고 piroxicam- γ -cyclodextrin은 4.7849 hr로 나타났다. method of residuals(잔차법)에 따라 흡수속도정수(K_a)를 구한 결과 piroxicam은 0.1177 hr^{-1} , piroxicam- α -cyclodextrin은 0.6949 hr^{-1} 및 piroxicam- γ -cyclodextrin은 0.3076 hr^{-1} 로 piroxicam- β -cyclodextrin은 piroxicam보다 약 6배 빨리 흡수됨을 알 수 있었으며 이것은 앞에서와 같이 최고 혈중농도 발현시간이 빠르 것과 같은 이유로 생각된다. 한편, 각각의 혈중농도 곡선으로부터 그 곡선하면적을 구하여 상대적인 생체이용율을 비교해 볼 수 있다(Table II). 총 흡수곡선하면적을 비교해 보면 piroxicam은 $283.983 \mu g \cdot hr \cdot ml^{-1}$ 인데 반해 piroxicam- α -cyclodextrin은 $267.107 \mu g \cdot hr \cdot ml^{-1}$ 로 piroxicam보다는 낮고, piroxicam- β -cyclodextrin은 $580.171 \mu g \cdot hr \cdot ml^{-1}$ 로 piroxicam보다 약 2배로 크며 piroxicam- γ -cyclodextrin은 $357.244 \mu g \cdot hr \cdot ml^{-1}$ 로 약 1.3배의 크기를 가졌다. 따라서 piroxicam- β -cyclodextrin은 흡수가 빠르면서 상대적으로 생체내 이용율도 크게 나타났으므로, piroxicam의 α , β 및 γ -cyclodextrin 각각의 포집화합물을 suspension으로 했을 때 piroxicam에 대한 경구적 응용에서 piroxicam- β -cyclodextrin이 가장 유용한 것으로 나타났다.

결론

Piroxicam의 용해도와 안정성이 개선된 piroxicam- α , β 및 γ -cyclodextrin 포집화합물의 생체내 이용율 및 약동력학적 매개변수로 그 가능성을 평가하였다.

1. 최고 혈중농도(C_{max})의 경우 piroxicam과 비교시 piroxicam- α 및 γ -cyclodextrin 포집화합물은 거의 같거나 약간 높은 값을 나타냈으나 piroxicam- β -cyclodextrin 포집화합물은 약 2.5배 높았다.
2. 전체 혈중농도 곡선하 면적(AUC_{total})의 비교에서는 piroxicam에 비하여 piroxicam- α -cyclodextrin 포집화합물은 오히려 낮았고 piroxicam- β -cyclodextrin 포집화합물은 약 2.1배 piroxicam- γ -cyclodextrin 포집화합물은 약 1.3배 큰 값을 나타냈다.
3. one-compartment open model에 적용시켜 약동력학적 매개변수를 구한결과 piroxicam의 K_e 와 비교시 piroxicam- α -cyclodextrin 포집화합물은 낮았으며 piroxicam- β -cyclodextrin 포집화합물은 거의 같았고 piroxicam- γ -cyclodextrin 포집화합물은 약간 높은 값을 나타냈으며, K_a 는 piroxicam에 비하여 piroxicam- α -cyclodextrin 포집화합물은 약 5배 piroxicam- β -cyclodextrin 포집화합물은 약 6배 piroxicam- γ -cyclodextrin 포집화합물은 약 3배 높았다.
4. 최고 혈중농도 발현시간은 piroxicam은 투여 후 5시간 piroxicam- α 및 β -cyclodextrin 포집화합물은 투여 후 2시간, piroxicam- γ -cyclodextrin 포집화합물은 투여 후 4시간으로써 속효성 즉 초기흡수에 유용한 것으로 나타났다.

문헌

- 1) Theeuwes, F. and Bayne, W.: *J. Pharm. Sci.*, **66**(10), 1388-1392 (1977).
- 2) Huynh-Ngoc, T., Chabot, M. and Sirois, G.: *ibid.*, **67**(10), 1456-1459 (1978).
- 3) Natsumaru, H., Tsuchiya, S. and Hosone, T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 2504 (1977).
- 4) Sekiwa, H., Nakano, M. and Arita, T.: *J. Pharm. Sci.*, **98**, 62 (1978).
- 5) Chiou, W.L. and Nigzi, S.: *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1333 (1971).
- 6) Wong, L.T., Solomonraj, G.P. and Thomas, B.H.: *J. Pharm. Sci.*, **65**(7), 1064-1066 (1976).
- 7) Kor duba, C.A. and Pet ruzzi, R.F.: *J. Pharm. Sci.*, **73**(1), 117-118 (1984).
- 8) Levy, G. and Jones, R.D.: *J. Am. Pharm. Assoc.*, **19**(1), 546 (1977).
- 9) Sekiguchi, K. and Verbist, M.C.: *Chem. Pharm. Bull.*, **9**, 866 (1961).
- 10) Wisemon, E.H.: *J. Am. Med.*, **72**(2A), 2-8 (1982).
- 11) Crawford, T.C., Keely, S.L. and Larson, D.L.: *U.S. US*, **4**, 559 326, 17, Dec. (1985).
- 12) Crawford, T.C., Keely, S.L. and Larson, D.L.: *U.S. US*, **4**, 564, 614, 14, Jan (1986).
- 13) Watanabe, I., Abe, N. and Tanake, K.: *Oyo Yokuri*, **25**(1), 7-8 (1983).
- 14) Uekama, K.: *J. Pharm. Sci.*, **68**(8), 1059-1060 (1979).
- 15) Min, S.H.: *J. Pharm. Soc. Kor.*, **15**, 8-15 (1971).
- 16) Min, S.H.: *J. Kor. Pharm. Sci.*, **1**(1), 22-29 (1971).
- 17) Kim, S.K.: *ibid.*, **4**(1,2), 13-18 (1974).
- 18) Uekama, K., Fujinaga, T. and Hirayama, F.: *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**, 627-630 (1982).
- 19) Hirayama, F. and Uekama, K.: *Chem. Pharm. Bull.*, **27**(2), 435-441 (1979).
- 20) Hirayama, F. and Uekama, K.: *ibid.*, **29**(1), 213-219 (1981).
- 21) Wong, A.B. and Lin, S.F.: *J. Pharm. Sci.*, **72**(4), 177-181 (1983).
- 22) Woo, J.H., Park, J.H. and Kim, S.K.: *J. Kor. Pharm. Sci.*, **2**(2), 5-17 (1972).
- 23) Koizumi, K. and Kidera, Y.: *Yakugaku Zasshi*, **97**(7), 705-711 (1977).
- 24) Uekama, K. and Matsuo, N.: *Chem. Pharm. Bull.*, **27**(2), 398-402 (1979).
- 25) Collins, A.J. and Notarianni, L.J.: *J. Int. Med. Res.*, **12**(3), 179-183 (1984).
- 26) Martindale, 28th ed., 275 (1982).
- 27) Macek, J. and Vacha, J.: *J. Chromatography*, **420**, 445-449 (1987).
- 28) 사단법인 대한 공정서협회 : 대한약전 5개정 추보, 13(1988).
- 29) Kaplan, H.M. and Timmons, E.H.: "Rabbit", Academic Press, 58 (1979).
- 30) Gibaldi, M. and Perrier, D.: "Pharmacokinetics" ed. II. Merce! Deker Inc. 1-40, 433-450 (1982).
- 31) Tsuchiya, S., Hiura, M. and Matsumaru, H.: *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 678 (1977).
- 32) Shim, C.K. and Lee, I.V.: *Archi. Pharm. Rec.*, **8**(3), 177-186 (1985).
- 33) Uekama, K. and Matsuo, N.: *Chem. Pharm. Bull.*, **27**(2), 298-402 (1979).