

Nitroxylin과 Levamisole의 피하 주사용 복합제제의 설계에 관한 연구

오순균 · 오경희 · 김종국[†]

서울대학교 약학대학

(1994년 2월 17일 접수)

A Formulation Study on the Combined Preparation of Nitroxylin and Levamisole for Subcutaneous Injection

Soon-Gyun Oh, Kyoung-Hee Oh and Chong-Kook Kim[†]

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received February 17, 1994)

In order to develop a broad-spectrum veterinary anthelmintic, a combined preparation of nitroxylin and levamisole was formulated for subcutaneous injection. The preformulation studies on solubilization, physicochemical stability and toxicity of combined preparation were performed. The combined preparation of nitroxylin-N-ethylglucamine and levamisole base could be solubilized up to 50.3%(w/v) of active ingredient concentration in propylene glycol/water system. Injectable solutions were most stable at 4°C. Local toxicities such as flare and edema were not shown when the usual dose of the combined preparation was injected subcutaneously to the rats.

Keywords—Combined preparation, Nitroxylin, Levamisole, Propylene glycol, N-Ethylglucamine, Veterinary anthelmintic

가축에 각종 기생충들이 고율로 감염되면 성장에 장애를 받아 생산성이 저하됨으로써 경제적인 손실이 초래되며, 축산업 진흥에 큰 장애요인이 될 수 있다. 특히, 간질류는 반추동물의 기생충을 대표할 정도로 감염율이 매우 높으며, 소화관내의 선충류 등 다른 기생충들에 의한 피해도 매우 큰 것으로 알려져 있다.¹⁾ 간질을 구충하기 위하여는 오래전부터 carbon tetrachloride, hexachloroethane, hexachlorophene, bithionol sulfoxide, bromsalans, oxyclozoxide, niclofolan, rafoxanide, diamphenethide 등이 사용되었다. 또한, 소화관내에 많이 기생하는 선충류를 제거하기 위해서, 초기에는 tetrachloroethylene, toluene, disophenol, phenethiazine, piperrazine, pyrantel, morantel 등이 사용되었으며, 유

기인 제제로서 dichlorvos, haloxan, coumaphos 등도 개발되어 사용되었으며, 그후 광범위 구충제로서, imidazothiazole과 benzimidazole계인 thiabendazole, febantel, levamisole 등이 각광을 받게 되었다. 그러나, 간질류와 선충류를 구충하기 위하여 수종의 약제를 각각 투여하여야 하는 번거로움이 있으며 가축을 다량 사육시 모든 가축에게 수종의 약제를 각각 투여하는 데는 현실적으로 많은 어려움이 있다.

선진국에서는 소, 면양 등의 사육에 가장 큰 피해의 원인이 되고 있는 간질 및 소화관내 선충류를 1회 투여로 동시에 구충할 수 있으며 투여가 간편하고 경제성이 있는 구충제를 개발하고자 흡충류 특히 간질의 구충제와 소화관내 선충류의 구충제로 각광을 받았던 각각의 약제를 혼합한 복합제제로서

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

oxyclozanide와 tetramisole의 복합제제, oxyclozanide와 levamisole의 복합제제, rafoxanide와 thiazibenzazole의 복합제제, brotitanide와 thiophanate의 복합제제 등을 개발하여 광범위 구충제로 사용하고 있다. 그러나, 이들 복합제제들은 경구용이기 때문에 실제적인 구충효과는 실험실에서 평가되었던 수준에 대부분 미달된다. 그 이유는 경구적으로 투여된 약물이 반추동물의 위장관을 통과하는 과정에서 장내 미생물에 의하여 대사되어 생체이용율(bioavailability)이 현저히 감소되어 약물의 효력이 저하되기 때문이다. 이러한 단점을 보완할 목적으로 간질 구충제로서 그 효능이 높고 평가되었던 nitroxylin¹²과 소화관내 선충류에 특효가 있는 levamisole³⁻⁷이 각각 단일제제의 주사제로 개발되어 시판되고 있으나 흡충류와 선충류에 모두 구충효과를 발휘하기 위해서는 이들 약물을 각각 따로 투여해야 하며, 특히 축산농가에서 많은 수의 가축에 투여할 경우에는 매우 번거로운 일이 될 것이다. 일반적으로 구충제류는 광범위한 구충작용, 투여의 간편성, 경제성 등이 요구되므로, nitroxylin과 levamisole을 동시에 투여할 수 있는 복합제제를 개발하는 것은 축산진흥에 매우 도움이 될 것이다.

그러나, 이 두 성분을 함유하는 복합제제를 개발하는 데에는 가용화, 안정성, 안전성 등에 관한 문제점들을 반드시 해결해야 한다. Nitroxylin은 그 자체로는 물에 녹지 않으므로 N-ethylglucamine을 가하여 염의 형태로 가용화시킨 피하주사제가 시판되고 있으나, 이용액에 다른 염이 함께 존재할 경우에는 불용성 침전물이 생성될 수 있으며 levamisole과의 복합제제에서도 침전이 생성될 우려가 있다. 또한 시판 중인 nitroxylin 주사제 중의 nitroxylin 농도가 34%(w/v)이며, 여기에 levamisole이 복합 처방될 경우, 주성분의 농도가 약 50%(w/v) 이상의

고농도가 요구되므로, 제제설계에 많은 어려움이 예상된다. 본 연구에서는 preformulation 단계로 levamisole과 nitroxylin의 용해상태를 각종 용제에서 조사하여 동시에 가용화할 수 있는 합리적인 처방을 설계하고, 선정된 처방에 대하여 안정성 및 안전성 시험을 실시하여 최적 처방과 그 제조방법을 확립하고자 하였다.

실험 방법

시약 및 기기

시약 및 재료로는 levamisole HCl(현대약품), nitroxylin(한국미생물 연구소), levamisole base(levamisole. HCl로부터 제조), N-ethylglucamine(한국 동물약품), benzyl alcohol(Tokyo Ohka Kogyo Co.), dimethylacetamide(DMA, Junsei Chem. Co.), dimethylsulfoxide(DMSO, Junsei Chem. Co.), polyethylene glycol(PEG) 200, 300, 400(Wako Pure Chem. Co.), propylene glycol(PG, Yakuri Pure Chem. Co.), soybean oil(Junsei Chem. Co.), sesame oil(Junsei Chem. Co.) 등을 사용하였다.

기기 및 기구로는 rotary evaporator(Tokyo Rikakikai Co.), vortex type mixer(Thermolyne Maxi Mix Type 37600), HPLC apparatus(pump: Hitachi 655A-11, detector: Hitachi L-4200, column: Lichrosorb RP 18(10 μ m)), ultrasonicator(MSE, UK) 등을 사용하였다.

Levamisole Base의 제조

염산 levamisole 100 g을 150 ml의 증류수에 용해시킨 후 3 N-NaOH용액을 교반하면서 중성이 될 때까지 가한 후, 여기에 dichloromethane을 150 ml 가하여 levamisole base를 추출한다. 증류수로 dichloromethane층을 세척한 후 anhydrous sodium sul-

Table I—Formulations of the Combined Preparation of Nitroxylin and Levamisole

| Ingredient (mg/ml) | Formula No. | | | | | |
|-----------------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | A-1 | A-2 | A-3 | A-4 | B-1 | B-2 |
| nitroxylin | 200.0 | 200.0 | — | — | 250.0 | 250.0 |
| nitroxylin-N-ethylglucamine | — | — | 344.3 | 344.3 | — | — |
| levamisole | 127.3 | — | 127.3 | — | 159.1 | — |
| levamisole HCl | — | 150.0 | — | 150.0 | — | 187.5 |
| injection vol. | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 4.0 | 4.0 |

phate를 가하여 세게 흔들어 준 다음, 여과하여 얻은 여액을 40°C 이하에서 rotary evaporator를 사용하여 용매를 증발시킨 후, 남은 고형분을 수거하여 유발을 사용하여 분쇄하고 vacuum desiccator에서 건조시켰다.

용해도 측정

각종 용제에 대한 nitroxylin, levamisole base, 염산 levamisole 등의 용해도를 약 18°C에서 측정하였다. 각종 용제 1 ml에 약물을 소량씩 가한 후 vortexing하면서 포화용액이 될 때까지 가하여 용해도를 구하였다.

가용화 실험

본 복합제제를 실용화할 수 있도록 개발하기 위해서는 주성분의 1회 투여용량을 가축에 투여 가능한 injection volume 한도내에서 적정 농도 이상 가용화 할 수 있어야 한다. Nitroxylin의 상용량은 10 mg/kg이며, 염산 levamisole의 상용량은 7.5 mg/kg이므로, 이를 고려해 볼때 300 kg짜리 소를 기준으로 하여 100 kg당 피하주사 용량을 4~5 ml로 설정하고 nitroxylin과 levamisole 상용량이 함유된 주성분의 처방은 Table I과 같다. Table I의 처방을 기준으로 하여 nitroxylin과 levamisole의 가용화 방법을 다음과 같이 연구하였다.

Nitroxylin과 levamisole base의 가용화—DMA와 증류수의 비율을 9대 1에서 1대 9까지 변화시켜 9종의 DMA-증류수 혼합용매를 각각 제조한 후 이들 용매 10 ml씩에 nitroxylin과 levamisole base를 처방량 만큼 서서히 가하여 용해시킨 후 침전 생성 여부를 관찰하였다.

Nitroxylin과 염산 levamisole의 가용화—DMA와 증류수의 비율을 변화시켜 가면서 DMA에 nitroxylin을 처방량 만큼 용해시키고 염산 levamisole수용액을 혼합하여 침전 생성여부를 관찰하였다.

Nitroxylin-N-ethylglucamine염과 levamisole의 가용화—PG와 증류수의 용적비를 10대 0에서 0대 10까지 달리하여 제조한 10 ml의 PG-증류수 혼합용매를 각각 시험관에 넣고 여기에 과량의 nitroxylin-N-ethylglucamine을 가한 다음 18°C에서 평형에 도달할 때까지 교반한 후, 원심분리하여 상등액을 취하고 이를 methanol로 희석하여 270 nm에서 흡광도를 측정 후 용해도를 계산하였다.⁸⁻¹¹⁾ 이와 동일한 방법으로 levamisole의 포화용액을 만든 후

methanol로 희석하여 215 nm에서 흡광도를 측정하고 용해도를 계산하였다.

Nitroxylin-N-ethylglucamine염과 염산 levamisole의 가용화—nitroxylin을 N-ethylglucamine과 반응하여 가용성 복합체로 만든 Nitroxylin-N-ethylglucamine 용액(nitroxylin 34%(w/v)) 1 ml에 25.5%(w/v) 염산 levamisole 수용액 1 ml를 가하여 혼합한 (nitroxylin 34%(w/v)) 1 ml에 25.5%(w/v)염산 levamisole 수용액 1 ml를 가하여 혼합한 다음 이 용액 중에서의 침전 생성여부를 조사하였다.

용액 주사제의 처방설계 및 안정성 시험

제조된 모든 주사용액 중의 주성분 농도(nitroxylin: 250.0 mg/ml, levamisole base: 159.1 mg/ml)와 N-ethylglucamine의 농도(180.5 mg/ml)는 일정하게 되도록 하였다. 먼저 nitroxylin과 N-ethylglucamine을 처방량의 2배 농도가 되도록 증류수에 용해시켜 nitroxylin 수용액을 조제하고, 따로 35~40°C에서 levamisole base를 PG에 용해시켜 levamisole용액을 조제한 다음, 이 두 가지 주성분 용액을 혼합하여 주사용액을 제조하였다. 이때 최종 용액의 증류수와 PG의 비율이 여러가지가 되도록 제조하였으며, 각각의 용액을 40°C, 실온 및 4°C에 보관하고 시간 경과에 따라 침전의 생성 정도, pH변화, 변색 등을 관찰하였다.

PG-증류수 system에서 PG와 증류수의 비율이 6대 4가 되도록 상기의 제조방법에 따라 제조한 주사용액을 검체로 하여 화학적 안정성 시험을 실시하

Table II—The HPLC Conditions for the Analysis of Nitroxylin and Levamisole

| Items | Nitroxylin | Levamisole |
|---------------------|---|---|
| column | Lichrosorb RP 18(10 μm) | Lichrosorb RP 18(10 μm) |
| mobile phase | 60% methanol and 40% 0.05 M ammonium carbonate | 65% methanol and 35% 0.05 M ammonium carbonate |
| flow rate | 1.0 ml/min | 2.0 ml/min |
| chart speed | 2.5 mm/min | 2.5 mm/min |
| injection volume | 10 μl | 10 μl |
| wavelength | 400 nm | 220 nm |
| aufs | 0.05 | 0.05 |

였다.^{12,13)} 검체를 밀봉용기에 담아 40, 50, 70 및 90 °C의 life tester에 보관한 후 일정시간 간격으로 검체를 채취하여, methanol로 적정 농도가 되도록 희석한 다음 nitroxylin과 levamisole의 농도를 Table II의 HPLC조건에 따라 표준액을 측정하여 작성한 검량선으로부터 함량을 측정하였다.

국소 독성 시험

최종으로 선정된 주사제 처방에 대하여 주사할 때 주사 부위의 국소 독성 발현 정도를 측정하여 가장 안전한 처방을 선택하고자 웅성 Wistar rat에 피하주사하여 그 부종발생 및 발적등을 1일, 3일, 7일 간격으로 하여 육안으로 관찰했다.

결과 및 고찰

Nitroxylin과 Levamisole의 각종 용매에 대한 용해도

Nitroxylin과 N-ethylglucamine 및 염산 levamisole의 구조는 Fig. 1과 같다. Nitroxylin, 염산 levamisole 및 levamisole base의 각종 주사용 용매에 대하여 용해도를 측정한 결과는 Table III과 같았다. Nitroxylin은 물에 난용성이며 alcohol류에는 어느 정도 용해되었고 DMF, DMSO, DMA에서는 용해도가 상당히 증가되었다. Nitroxylin 그 자체는 물에 난용성이지만 N-ethylglucamine을 첨가하면 분자간 상호 작용에 의하여 복합체를 형성하게 되어 물에 쉽게 용해되며 증류수에서 약 45% 이상 용해된다.¹⁴⁾ 염산 levamisole은 물에 매우 잘 녹으며 benzyl alcohol, propylene glycol에 어느정도 용해되었다. Levamisole base는 물에는 잘 용해되지 않으나 대부분 유기용매는 매우 잘 녹았다.

Table III에 기재된 각종 용매에 대한 nitroxylin, levamisole base 및 염산 levamisole의 용해도를 근거로 하여 Table I에 설정한 처방에 대하여 동시 가용화 실험을 행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

혼합 용매중에서 Nitroxylin과 Levamisole의 동시 가용화

Nitroxylin과 levamisole base의 가용화—DMA와 증류수의 용매계에서 DMA와 증류수의 비율을 달리하여 nitroxylin과 levamisole 복합제(B-1 처방)의 용해 상태를 관찰해 본 결과 DMA대 증류수의 비가 9대 1과 8대 2일때 침전이 전혀 생성되지 않는 용

Table III—Solubility of Nitroxylin, Levamisole HCl and Levamisole Base in Various Solvents

| Solvent | Solubility(mg/solvent 1 ml) | | |
|------------------|-----------------------------|----------------|-----------------|
| | Nitroxylin | Levamisole HCl | Levamisole base |
| ethanol | 10 | — | 3000 |
| glycerin | 6 | 10 | — |
| benzyl alcohol | 145 | 490 | 4000 |
| propylene glycol | 10 | 300 | 3000 |
| PEG* 200 | 80 | max.10 | — |
| PEG 300 | 110 | max.10 | — |
| PEG 400 | 110 | max.10 | — |
| DMA* | 760 | — | 4200 |
| DMF* | 725 | 30 | 2800 |
| DMI* | 580 | max.10 | 2500 |
| DMSO* | 875 | 60 | 2100 |
| PC* | — | — | 5000 |
| TG* | 100 | — | — |
| soybean oil | 50 | — | max.50 |
| sesame oil | 50 | — | max.50 |
| distilled water | — | 2100 | — |

*PEG; polyethylene glycol, DMA; dimethylacetamide, DMF; dimethylformamide, DMI; dimethyl isosorbide, DMSO; dimethylsulfoxide, PC; propylene carbonate, TG; triethylene glycol.

액을 제조할 수 있었으며, 상온에서 1년간 보관한 후에도 침전이 생성되지 않았으므로 양호하였다.

Nitroxylin과 염산 levamisole base의 가용화—상용량과 1회 주사용량을 고려해 볼 때 주성분의 농도는 Table I의 B-2처방과 같이 nitroxylin은 250 mg/ml, 염산 levamisole은 187.5 mg/ml가 되도록 용액을 만드는 것이 바람직하다. 주성분을 이 농도 수준으로 가용화 시키기 위하여 DMA와 증류수의 비율을 달리하여 실험하였으나, 모두 침전이 생성되었으므로 양호한 용액을 만들 수 없었다.

Nitroxylin-N-ethylglucamine염과 levamisole base의 가용화—PG와 증류수의 용매계에서 PG의 용량비를 변화시키면서 nitroxylin-N-ethylglucamine의 용해도를 측정된 결과 Fig. 2와 같았다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 PG의 용량비가 증가할수록 nitroxylin의 용해도는 감소함을 알 수 있었다.

이 용매계에서 PG의 용량비에 따른 levamisole

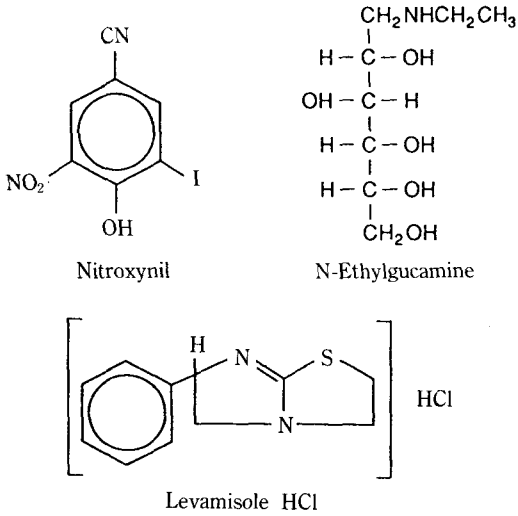


Figure 1—Chemical structure of nitroxylin, N-ethylglucamine and levamisole HCl.

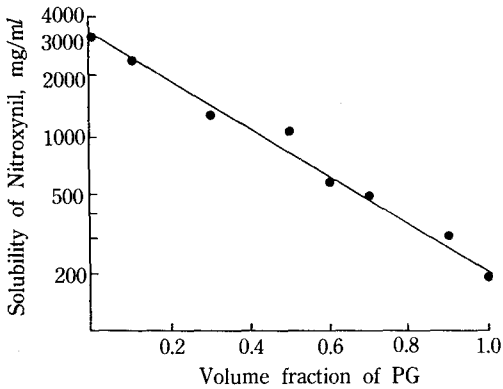


Figure 2—Solubility of nitroxylin with N-ethylglucamine in PG-water system.

base의 용해도를 측정된 결과 Fig. 3과 같았는데, nitroxylin에서와는 반대로 PG의 용량비가 증가할수록 levamisole base의 용해도는 증가하였으며 용량비 0.1에서 0.6구간에서 직선성을 나타내고 있다. Yalkowsky등⁹⁾에 따르면 PG-증류수 system에서의 약물의 용해도를 Sm이라 하고 증류수에서의 약물의 용해도를 Sw라 하며, f를 PG의 용량비, 그리고 σ 를 $\log Sm$ 대 f그래프의 기울기라 할때,

$$\log (Sm/Sw) = \sigma f$$

라는 관계가 성립한다는 것을 보고하였다. 여기서

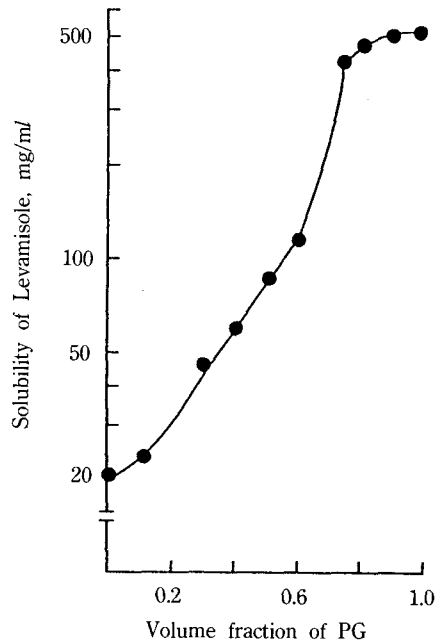


Figure 3—Solubility of levamisole base in PG-water system.

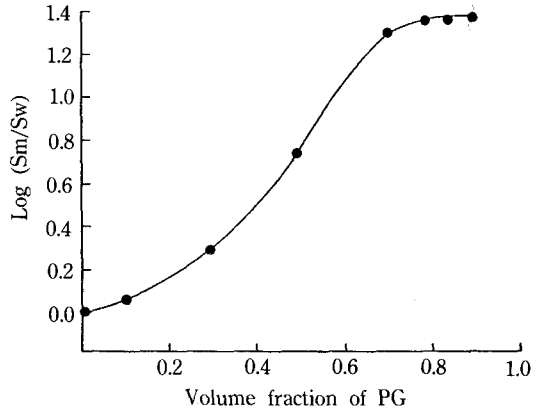


Figure 4—Effect of PG fraction on the solubility of levamisole base in PG-water system.

σ 는 PG의 극성에 의해 영향을 받으며 PG의 약물에 대한 용해력을 의미한다. 위의 식에 의하면 난용성 약물의 용해도는 PG-H₂O 혼합용매계에서 PG의 용량비(f)가 증가할수록 증가된다. Fig. 4에서와 같이, PG의 용량비가 0.7 이하에서는 levamisole base의 용해도는 직선성을 나타내지 못하지만 PG의 용량비가 증가할수록 증가되는 경향을 나타내며 0.7 이

Table IV—Physical Stability (pH, Precipitation) of Injectable Solution using PG-water System

| Solvent Composition (H ₂ O : PG) | Storage Period (month) | pH | Precipitation | | |
|--|---------------------------|------|---------------|----|------|
| | | | 4°C | RT | 40°C |
| 8 : 2 | 1 | 10.0 | - | - | +* |
| | 3 | 10.0 | - | + | + |
| | 6 | 10.0 | - | + | + |
| | 12 | 10.0 | + | + | + |
| 7 : 3 | 1 | 9.8 | - | - | + |
| | 3 | 9.8 | - | + | + |
| | 6 | 9.8 | - | + | + |
| | 12 | 9.8 | + | + | + |
| 6 : 4 | 1 | 9.9 | - | - | + |
| | 3 | 9.9 | - | + | + |
| | 6 | 9.9 | - | + | + |
| | 12 | 9.9 | - | + | + |
| 5 : 5 | 1 | 9.8 | - | - | + |
| | 3 | 9.8 | - | + | + |
| | 6 | 9.8 | - | + | + |
| | 12 | 9.8 | + | + | + |
| 4 : 6 | 1 | 9.3 | - | - | + |
| | 3 | 9.3 | - | + | + |
| | 6 | 9.3 | - | + | + |
| | 12 | 9.3 | + | + | + |

*+ indicates the precipitation of drugs.

상에서는 용해도의 증가가 거의 일어나지 않았다. 이러한 현상은 본 실험에 사용한 약물과 용매계에서 분자간의 상호작용이 Yalkowsky의 실험결과와 다른 작용기전에 기인하는 것으로 생각된다.

Nitroxylin-N-ethylglucamine염과 염산 levamisole의 가용화—nitroxylin-N-ethylglucamine을 nitroxylin로서 34%(w/v) 용해되어 있는 시판 중인 간지렌®주사액 1 ml에 25.5%(w/v) 염산 levamisole 수용액 1 ml를 첨가하였더니 침전이 신속하게 다량 생성되었다.

용액 주사제의 처방설계 및 물리화학적 안정성

침전의 생성없이 처방량의 nitroxylin과 levamisole을 동시에 가용화시킬 수 있었던 DMA-증류수 혼합용매 및 PG-증류수 혼합용액 중 PG와 DMA의 LD₅₀는 각각 25 ml/kg와 5.4 ml/kg으로서¹⁵⁾ PG가 DMA보다 독성이 적기 때문에 PG-증류수 혼합용매를 이용하여 PG와 증류수의 비율을 변화시켜 가

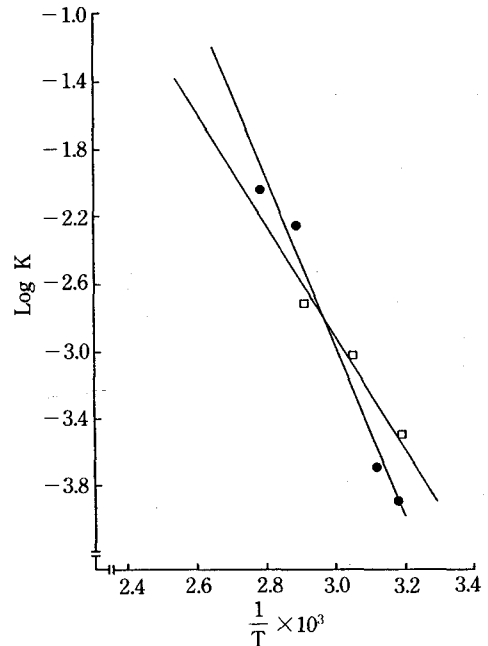


Figure 5—Effect of temperature on the decomposition of nitroxylin and levamisole (H₂O:PG=6:4, formula A-3 in Table I).

Key: □; nitroxylin, ●; levamisole.

면서 nitroxylin-N-ethylglucamine염과 levamisole base를 용해시킨 용액 주사제를 처방 설계하였다. 4°C, 실온 및 40°C에 보관하면서 제조한 주사액의 물리적 안정성으로 pH 변화 및 침전 생성여부를 경시적으로 측정된 결과는 Table IV와 같았다. 이 Table에서 보는 바와같이 PG-증류수 용매계를 이용한 용액 주사제는 4°C에서 가장 안정하였다. 특히 H₂O : PG가 6 : 4인 경우에는 4°C에서 냉장 보관하였을 때 12개월이 경과하여도 침전이 생기지 않았으며 pH변화도 없었다. Fig. 5는 nitroxylin-N-ethylglucamine과 levamisole base을 H₂O : PG의 비율이 6 : 4인 혼합용매에 녹여 안정성 시험을 하여 Arrhenius plot한 것이다. 4°C에서와 20°C에서의 분해반응 속도정수를 구한 결과, 20°C에서 nitroxylin이 $1.940 \times 10^{-4} \text{ hr}^{-1}$, levamisole이 $2.724 \times 10^{-4} \text{ hr}^{-1}$ 이었으며 4°C에서는 nitroxylin이 $2.96 \times 10^{-5} \text{ hr}^{-1}$, levamisole base가 $4.551 \times 10^{-5} \text{ hr}^{-1}$ 이었다. 이로부터 shelf life(T_{90%})를 구한 결과 4°C에서 nitroxylin이 약 148일, levamisole이 약 96일이었다. 따라서 본 연구

Table V—The Local Tolerance of the Selected Preformulations for Subcutaneous Injection to Five Wistar Rats Each Group

| Solvent composition | Dose (mg/kg) | Injection volume (ml) | No. of normal rats | No. of swollen rats | No. of dead rats within 1 day |
|--|--------------|-----------------------|--------------------|---------------------|-------------------------------|
| H ₂ O:DMA:PG | 0* | 1.0 | 4 | 1 | 0 |
| :benzyl alcohol =3:4:2:1 | 10 | variable** | 5 | 0 | 0 |
| | 50 | variable** | 3 | 2 | 0 |
| | | 0.5 | 1 | 1 | 3 |
| | | 1.0 | 3 | 1 | 0 |
| H ₂ O:PG =6:4 | 0* | 1.0 | 5 | 0 | 0 |
| | 10 | variable** | 4 | 1 | 0 |
| | 50 | variable** | 4 | 1 | 0 |
| | | 0.5 | 2 | 2 | 1 |
| | | 1.0 | 4 | 1 | 0 |
| Gan ji ren (nitroxylin 34%(w/v)) | 0* | 1.0 | 5 | 0 | 0 |
| | 10 | variable** | 5 | 0 | 0 |
| | 50 | variable** | 2 | 1 | 2 |

*control

**depend on a weight of rat using formula A-3 in Table I.

에서 nitroxylin-N-ethylglucamine염과 levamisole base를 동시에 가용화한 복합제제는 냉장보관시 유효기간이 3개월임을 알 수 있다.

국소 독성 시험

제조한 용액 주사제를 음성 Wistar rat에 피하주사하여 주사부위에 대한 발적, 부종 등의 부작용을 시판 중인 간지렌®주사용액을 대조로 하여 안전성 시험을 한 결과 Table V와 같았다. 이 Table에서 보는 바와 같이 nitroxylin을 기준으로 할 때, 상용량인 10 mg/kg에서는 두 용액 주사제 모두 거의 독성이 나타나지 않았으며, 상용량의 5배인 50 mg/kg에서는 대조약인 간지렌과 비슷한 정도의 독성이 나타났다.

결 론

Nitroxylin의 가용화 방법으로는 N-ethylglucamine을 이용하여 염의 형태로 물에 가용화 시키고 levamisole은 levamisole base로 하여 DMA 또는 PG에 가용화시킨 다음 이 두 용액을 적절한 비율로 혼합하여 nitroxylin과 levamisole이 함유된 용액을 만들 수 있었다. 특히, H₂O : PG가 6 : 4인 경우에는 4°C 에서 냉장 보관하였을 때 12개월이 경과하여도

침전이 생성되지 않으며 유효성분의 T_{90%}가 3개월 이상이였다. 국소 독성 실험에서는 상용량인 10 mg/kg에서 발적 및 부종이 나타나지 않았다.

문 헌

- 1) 광수동, 간질감염 및 구충제 DS-6 부작용에 관한 조사연구, 대한 수의학회지, **23**, 193 (1983).
- 2) J.M.S. Lucas, the anthelmintic activity of nitroxylin(4-hydroxy-3-iodo-5-nitro-benzonitrile) against parasitic nematodes in ruminants, *Res. Vet. Sci.*, **12**, 500 (1971).
- 3) J. Aceves and D. Erlij, the mechanism of the paralysing action of tetramisole on *Ascaris* somatic muscle, *Br. J. Pharmac.*, **38**, 602 (1970).
- 4) D. Thienpont and O.F.S. Vanparijs, Tetramisole, a new potent broad spectrum anthelmintic, *Nature*, **209**, 1084 (1966).
- 5) G.C. Coles, The mechanism of action of some modern anthelmintics, *Pestic Sci.*, **8**, 536 (1977).
- 6) H. Ciordia and H.C. McCampil, Activity of levamisole in control of nematode parasites and body weight gains of feedlot cattle, *Am. J. Vet. Res.*, **32**, 545 (1971).

- 7) O.F. Ibarra and D.C. Jenkins, The relevance of in vitro anthelmintic screening tests employing the free-living states of trichostrongylid nematodes, *J. Helminthology*, **58**, 107 (1984).
- 8) Y.W. Chien, Solubilization of metronidazole by water-miscible multi-cosolvents and water-soluble vitamins, *J. Parent. Sci. Tech.*, **38**, 32 (1984).
- 9) J.T. Rubino and S.H. Yalkowsky, Solubilization by cosolvents III: Diazepam and benzocaine in binary solvents, *J. Parent. Sci. Tech.*, **39**, 106 (1985).
- 10) G.L. Flynn, Solubility concepts and their applications to the formulation of pharmaceutical systems, *J. Parent. Sci. Tech.*, **38**, 202 (1984).
- 11) J.T. Rubino and J. Blancard, Solubilization by cosolvents II: Phenytoin in binary and ternary solvents, *J. Parent. Sci. Tech.*, **38**, 215 (1984).
- 12) N.A. Dickinson, Levamisole: Its stability in aqueous solutions at elevated temperatures, *Analyst*, **96**, 248 (1971).
- 13) C.K. Kim and H.S. Cha, Stability of pipethanate hydrochloride in aqueous solution, *Arch. Pharm. Res.*, **4**, 109 (1981).
- 14) M. Davis, I.A. Stubbles and D.E. Wright, Dimorphic forms of 4-cyano-2-iodo-6-nitrophenol N-methylglucamine salt, *Chem. Ind.*, **45**, 1918 (1967).
- 15) M. Windholz, Ed., The Merck Index, Merck and Co., Rahway, U.S.A., 1983.