

L-아르기닌 복합체를 이용한 피록시캄의 용해도 및 생체이용률의 증가

홍석천 · 유창훈 · 조동현 · 신현종 · 길영식[†]

한국유나이티드제약(주) 중앙연구소

(2002년 4월 21일 접수 · 2003년 5월 16일 승인)

Improvement of Solubility and Bioavailability of Poorly Water Soluble Piroxicam with L-Arginine Complex

Seok Cheon Hong, Chang Hun Yu, Dong Hyun Cho, Hyun Jong Shin and Young Sig Gil[†]

R&D center, Korea United Pharm. Inc., Yeongi, Chungnam 339-841, Korea

(Received April 21, 2002 · Accepted May 16, 2003)

ABSTRACT—Piroxicam-arginine complex was prepared to improve the solubility and dissolution rate of poorly water-soluble piroxicam. Its formation was identified by infrared spectrophotometry, differential thermal analysis and dissolution rate. Piroxicam complex dispersible tablets, commercial Feldene[®] dispersible tablets and piroxicam physical mixture hard capsules were prepared to compare dissolution rate in water. Dissolved amounts (%) after 15 mins of piroxicam complex dispersible tablets, commercial Feldene[®] dispersible tablets and piroxicam physical mixture hard capsules were 98%, 48% and 10%, respectively. The solubility of complex in water was significantly higher than that of piroxicam itself. *In vivo*, pharmacokinetic parameters were obtained after oral administrations of piroxicam complex and physical mixture at a dose of 2 mg to New Zealand White Rabbit. The C_{max} of piroxicam complex was similar to that of piroxicam. However, there were much difference between the two formulations with regard to T_{max} and AUC. The T_{max} of piroxicam alone was 4 hours, but that of piroxicam complex was 0.8 hours. In addition, the AUC of piroxicam complex was 1.38 times greater than that of piroxicam alone.

Key words—Complex, Dispersible tablet, L-arginine, Piroxicam, Poorly water soluble

류마치스성 관절염, 강직성 척수염 등의 동통, 염증 치료에 널리 사용되는 피록시캄은 oxicam계열의 비스테로이드형 소염진통제 물질로서, 미백색의 결정성 분말이며 물에는 거의 녹지 않는 수난용성 약물이다. 경구투여시 최고 혈중 농도 도달 시간은 약 3~5시간이고 반감기는 약 50시간(30~86 시간)으로 알려져 있다.¹⁻³⁾

일반적으로 의약품이 인체 내에 흡수되어 생체 내에서 높은 약리 활성을 나타내려면 우선 신속히 용출되어야 하는데, 약물의 용출속도는 체내에서의 흡수속도를 결정하며 혈액 중의 약물농도를 좌우하는 중요한 지표로서 약물의 용해도에 따라 다르게 나타난다. 그러나 약물이 물에 난용성인 경우 용출속도가 느리기 때문에 흡수가 낮고 그에 따른 약효 발현 및 생체이용률도 낮아지는 경우가 많다. 따라서 난용성 약물의 용출 증가 방법이 많이 연구되고 있는데, 대표적인 방법으로는 입자의 크기를 작게 하여 표면적을 증가시키는 방법,^{4,5)} 난용성의 물질에 대이온을 붙여서 산 또는 염

기의 염을 만드는 방법과 고분자 화합물이나 리간드를 결합시켜 수용성 복합체를 만드는 방법,⁶⁾ 그리고 cyclodextrin을 이용하여 포접화합물을 제조하는 방법⁷⁻¹⁰⁾ 등이 있다. 또한 계면활성제를 이용하여 미셀을 형성하여 그 중에 난용성 물질을 취하여 용해도를 증가시키는 방법¹¹⁻¹²⁾과 수용성 고분자를 이용한 고체분산체¹³⁻¹⁵⁾ 등이 최근 많이 연구되고 있다. 난용성 물질을 수용성 염으로 만드는 방법은 주로 강산이나 강염기가 사용되는데, 이로 인하여 복통이나 조식 자극 등의 문제점이 있다. 또한 계면활성제를 이용하는 경우에는 임계미셀 농도 이하로 제제 내의 계면활성제 농도가 희석되면 약물이 침전되는 문제점이 있다.

물에 난용성인 피록시캄의 용출 속도를 개선시키기 위하여 많은 연구가 진행되고 있는데, 여러 가지 cyclodextrin을 이용한 포접복합체 연구가 대부분이다.

따라서 본 연구에서는 피록시캄의 수난용성과 복잡한 가용화 방법을 개선하기 위하여 알칼리성 아미노산인 L-아르기닌을 이용하여 수용성 복합체를 만들어 약물의 용해도 증가를 유도하였으며, 적외부 흡수 스펙트럼, 열분석 등을 통하여 복합체 형성을 확인하였다. 또한 약물의 용출 시험을

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 041)862-5030, E-mail : happyysg@netian.com

통하여 *in vitro*에서의 시간에 따른 용출량을 측정하고, 복합체를 토끼에 경구투여하여 시간에 따른 약물의 혈중농도 변화로부터 약물 속도론적 파라미터를 구하였다.

실험방법

시약 및 기기

피록시캄은 한국유나이티드제약에서 합성한 원료를 사용하였고, L-아르기닌은 (주)대상에서 공급 받아 사용하였으며, 펠덴(Feldene)[®] 확산형은 한국화이자 제약에서 제조한 것을 구입하였다. Trichloroacetic acid(이하 TCA, Sigma chemical Co., U.S.A), HPLC용 메탄올(J. T. Baker Co., U.S.A), 구연산, 인산일수소나트륨(Daejung Chemical Co., 한국), 생리식염수(중외제약, 한국)을 사용하였고, 기타 시약들은 특급 또는 1급 시약을 사용하였다.

기기로는 HPLC system으로 pump(LC-10AT), UV-VIS 검출기(SPD-10A), 자동주입기(SIL-10A), 적분계(Class VP Chromatography Data System Version 4.2 computer software, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하였고, Luna 역상 C-18 column(250×4.6 mm, particle size 5 μm, Phenomenex, U.S.A), Luna 역상 C-18 guard column(30×4.6 mm, particle size 5 μm, Phenomenex, U.S.A), 퓨리어 변환형 적외분광광도계(FTIR-8400, Shimadzu, Kyoto, Japan), 시차주사 열분석기(Differential scanning calorimetry(이하 DSC))(TA Instrument DSC2910, U.S.A), UV-VIS 흡광광도계(UV-2450, Shimadzu, Kyoto, Japan), 원심분리기(Centronic 7000577, J. P. SELECTA, Spain), 용출시험기(DST 810, Labfine, 한국) 등을 사용하였다.

실험동물

1.5 kg~1.7 kg의 웅성 New Zealand White Rabbit를 Samtako사에서 구입하여 고형사료와 물을 자유로이 먹도록 하면서 3일 이상 동일한 실험조건에서 사육하였다. 약물 투여 24시간 전부터는 고형사료의 공급을 중단하여 절식시켰으나 물은 계속 공급하였다.

복합체의 제조

10% 에탄올에 L-아르기닌을 첨가하여 용해시켰다. 이 액에 동일 몰의 피록시캄을 넣고 섞어 교반하면서 용해시켰다. 이 액을 실온에서 감압건조 하여 분말화 하였다. 별도로 피록시캄과 L-아르기닌을 1:1의 몰 비로 취한 다음, 유발에서 혼합하여 물리적 혼합물을 조제하였다.

적외부 흡수스펙트럼의 측정

대한약전의 브롬화칼륨 정제법에 따라 피록시캄, L-아르기닌, 이들의 물리적 혼합물 그리고 복합체를 double beam 을 사용하여 파수 4,000 cm⁻¹~ 400 cm⁻¹에서 IR 흡수를 측정하였다.

DSC 측정

피록시캄과 L-아르기닌 그리고 복합체 약 3 mg을 알루미늄 팬을 사용하여 10.0°C/min의 승온속도, 20~300°C의 온도 범위에서 열량의 변화를 측정하였다.

확산형 정제의 제조

피록시캄의 복합체, 미결정셀룰로오스, 유당, D-소르비톨, 크로스포비돈 및 기타 다른 부형제와 활택제를 혼합하여 대한약전 7개정의 정제의 제법에 따라 확산형 정제를 단발정제기를 이용하여 타정하였다.

용출시험

대한약전 7개정에 수록된 용출시험법 제 2법에 따라 용출시험을 실시하였다. 시험약으로는 피록시캄 복합체의 확산형 정제를, 대조군으로는 시판중인 피록시캄 확산정(Feldene[®], 한국화이자 제약)과 피록시캄 캡셀(피록시캄 20 mg, 미결정셀룰로오스 그리고 스테아린산 마그네슘을 혼합하여 2호 캡셀에 충전한 캡셀제) 각각 6개를 사용하였다. 용출액으로 정제수 및 pH 1.2 액 900 ml를 사용하였고, 37±0.5°C의 항온에서 50 rpm의 paddle 회전속도로 용출시험을 실시하였다. 시료를 투입하고 5, 10, 15, 30, 45, 60 및 90분마다 용출액 5 ml씩을 취한 다음 여과하였다. 여액을 적절히 희석하여 대한약전 7개정의 피록시캄 캡셀형의 정량법인 자외가시부흡광도 측정법에 따라 333 nm에서 흡광도를 측정하여 피록시캄의 용출량을 산출하였다. 용출액을 채취한 직후, 동일 온도, 동량의 정제수로 보충하였다.

HPLC에 의한 피록시캄의 정량분석

검액의 조제에는 혈장 160 μl에 각각 7500, 5625, 3750, 1875, 937.5 및 468.8 ng/ml 농도의 피록시캄 등장액 20 μl 그리고 10% TCA를 20 μl을 넣어 1분간 vortex mixer로 혼합하여 단백질을 응고시키고 10분간 3,000 rpm의 회전속도로 원심분리하고 상등액을 0.45 μm membrane filter로 여과한 여액을 HPLC로 정량하여 검량선을 작성하였다. HPLC 이동상은 인산염 완충액과 메탄올 혼합액을 사용하였고 칼럼은 Luna 역상 C-18 column을 사용하였고, 유속은 0.8 ml/min, 검출조건은 254 nm, 주입량은 100 μl를 사용하였다.

피록시카의 농도와 피이크 면적을 이용하여 검량선을 작성하였다.

혈장농도의 측정

1.5 kg~1.7 kg의 웅성 New Zealand White Rabbit 4마리를 1 군으로 하여, 시험약으로는 피록시카로서 2 mg에 해당하는 피록시카와 L-아르기닌의 복합체를 부형제와 함께 혼합하여 2호 경질캡셀에 충전한 다음 사용하였으며, 대조약으로는 피록시카 2 mg과 미결정셀룰로오스 그리고 스테아린산 마그네슘을 넣고 2호 캡셀에 충전하여 경구투여 하였다. 약물투여 후, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 그리고 48시간마다 혈액 500 µl씩 채취하고 헤파린 처리한 eppendorf tube에 넣고 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈장을 얻었다. 혈장 180 µl에 10% TCA 20 µl를 넣고 분간 vortex mixer로 혼합하여 단백질을 응고시키고 10분간 3,000 rpm으로 원심분리하고 상등액을 0.45 µm membrane filter로 여과한 다음, HPLC를 이용하여 정량분석의 시험법에 따라 분석하고 검량선에 대입하여 혈장 중의 피록시카의 농도를 측정하였다.

약물동력학적 파라미터 분석

피록시카 및 피록시카와 L-아르기닌의 복합체의 경구투여 후의 약물 속도론적 파라미터로서 C_{max} , T_{max} 그리고 AUC_{0-48hr} 를 구하였다. 이때 C_{max} 와 T_{max} 는 실측치를 사용하였으며 AUC 는 K-BEtest[®]를 이용하여¹⁶⁾ 최종 채혈시점까지의 값을 통상의 방법에 따라 구하였다.

결과 및 고찰

적외부 흡수 스펙트럼

Figure 1에 피록시카, L-아르기닌, 이들의 물리적 혼합물 그리고 복합체의 IR 스펙트럼의 결과를 나타내었다. 피록시

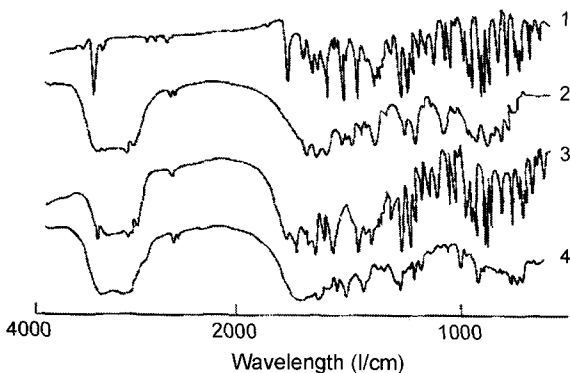


Figure 1—Infrared absorption spectra of piroxicam/L-arginine system. Keys: 1; Piroxicam, 2; L-arginine, 3; Physical mixture, 4; Complex.

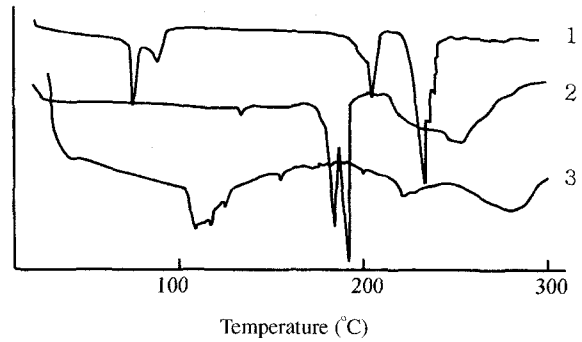


Figure 2—DSC thermograms of piroxicam/L-arginine system. Keys: 1; L-arginine, 2; Piroxicam, 3; Complex.

카는 3,392 cm^{-1} 부근에서 SO_2 기의 신축진동 피이크와, 1,640 cm^{-1} 부근에서 이중결합과 카르보닐 결합의 신축진동 피이크를 보이고 있고 방향족 고리에서 많은 흡수를 보이고 있다. L-아르기닌은 3,600~3,000 cm^{-1} 부근에서 OH기와 아민기의 흡수가 겹치면서 높은 흡수를 보이고 있다. 그러나 복합체에서는 피록시카의 SO_2 결합에서 보이는 예리한 피이크가 고파수로 약간 이동하면서 피이크가 줄어들었으며, 1,600 cm^{-1} 부근에서도 피이크들이 이동 및 소실되는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 사실로 보아 피록시카는 L-아르기닌과 결합하여 복합체를 형성하여 구조에 변화가 있는 것을 알 수 있었다.

DSC 측정

Figure 2에 피록시카, L-아르기닌 그리고 복합체의 DSC 측정 결과를 나타내었다. 피록시카는 융점 부근인 198°C 부근에서 흡열 피이크가 강하게 나타나는 특징을 보이고, L-아르기닌은 decomposition 온도인 약 244°C에서 흡열 피이크를 나타내고 있다. 그러나 두 물질의 복합체에서 피록시카와 L-아르기닌의 흡열 피이크의 소실과 이동을 관찰할 수 있었다. 피록시카의 융점이 198~200°C로서 비교적 높은 것으로 미루어 보아 피록시카가 물에 난용성인 것은 결정격자 에너지(crystalline lattice energy)가 매우 크고 분자내부의 수소결합에 의하여 소수성이 크며, 입자간의 응집력(cohesive force)이 크기 때문인 것으로 추측된다. 따라서 L-아르기닌을 이용하여 복합체를 제조함으로써 결정구조에 변화를 일으켜서 결정에너지를 감소시킨 것으로 사료된다.

용출시험

Figure 3, 그리고 Figure 4에 피록시카 복합체의 확산형 정제, 시판중인 확산형 정제 그리고 일반 캡셀제에 대한 용출 거동을 나타내었다. 정제수에 대한 용출시험에서는 피록시카 복합체의 확산형 정제의 경우, 용출 개시 10분 후에

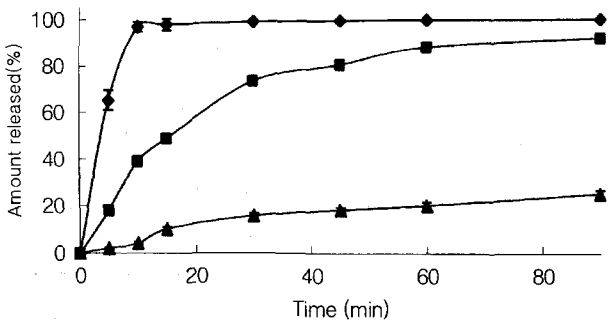


Figure 3—Comparative dissolution profile in water (mean±S.D., n=6).
Keys: ▲; Piroxicam alone capsule, ■; Piroxicam commercial tablet, ◆; Piroxicam complex dispersible tablet.

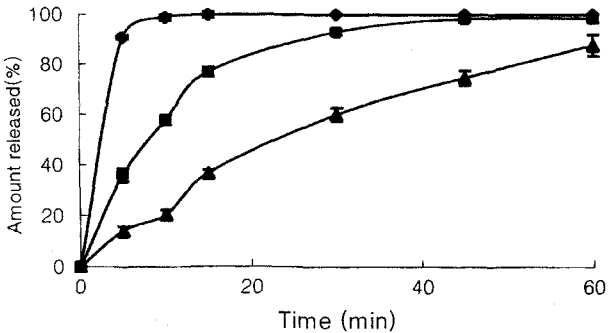


Figure 4—Comparative dissolution profile in pH 1.2 (mean±S.D., n=6).
Keys: ▲; Piroxicam alone capsule, ■; Piroxicam commercial tablet, ◆; Piroxicam complex dispersible tablet.

거의 최고 용출량에 도달되어 steady state에 도달하는 것을 알 수 있다. 시판 확산형 정제도 캡셀제에 비하여 매우 빨리 분해되지만 피록시카ムの 수난용성 때문에 10분 후의 용출율은 40% 정도에 불과하였다. 일반 캡셀제의 경우는 90분 정도 후에도 용출율이 20% 정도였다. 용출 개시 15분 경과 후의 용출율을 비교해 보면, 복합체의 확산형 정제는 약 98%였고, 시판 확산형 정제는 약 48% 그리고 캡셀제의 경우에는 약 10% 정도였다. pH 1.2액에 대한 용출시험에서는 용출 개시 15분 경과후의 용출율을 비교했을 때, 각각 약 100%, 77% 그리고 38% 정도로 피록시카ム이 산성용액에서 용해도가 증가하기 때문에 전체적으로 용출율이 증가되는 것을 관찰할 수 있었다. 이와 같이 피록시카ム 복합체는 원래의 물질에 비해 용출량이 현저히 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

혈장농도의 측정

혈장 중의 피록시카ムの 검량선을 구한 결과, 피록시카ムの 농도와 피이크 면적의 관계는 회귀방정식을 이용하여 $y = 78.197x + 339.02 (r^2 = 0.9998)$ 이라는 식을 얻을 수 있었다. 피록시카ム 캡셀과 피록시카ム 복합체 캡셀을 피록시카ム으로서 2

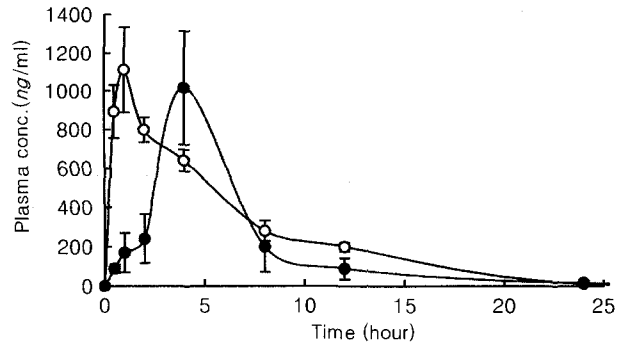


Figure 5—Plasma piroxicam concentration in rabbit after oral administration (mean±S.D., n=4).
Keys: ●; Piroxicam, ○; Piroxicam-arginine complex.

Table I—The Pharmacokinetic Parameters of Piroxicam and Piroxicam-Arginine Complex (mean±S.D., n=4)

	Piroxicam	Complex
C_{max} (ng/ml)	1017.2±296.0	1110.7±222.9
T_{max} (hrs)	4.0±0.0	0.8±0.88
AUC_{0-48} (ng · hr/ml)	4731.9±1123.5	6538.6±273.2

mg에 해당하는 양을 토끼에게 경구투여한 후 나타난 경시적 혈중 농도를 Figure 5에 나타내었다. 복합체는 피록시카ム을 단독으로 투여했을 경우보다 더 빠른 최고혈중 농도를 나타내었고 AUC도 증가하였다. 약물 속도론적 파라미터를 구한 결과, 복합체와 피록시카ム을 토끼에게 투여했을 때, T_{max} 는 각각 0.8시간, 4시간이었으며, C_{max} 는 1110.7 ng/ml, 1017.2 ng/ml이었다(Table I). C_{max} 가 유사한 이유는 피록시카ム이 위액에서 일정양 용해가 되어서 흡수가 증가한 것으로 사료된다. 복합체는 피록시카ム보다 용해도가 뛰어나기 때문에 빨리 최고혈중 농도에 도달하면서 유효치료 농도를 벗어나지 않기 때문에 부작용의 측면에서도 바람직한 것으로 사료된다. 이것은 피록시카ムの 복합체를 경구투여 하면, 약물의 용출 속도 및 흡수 속도가 빨라지기 때문에 해열, 진통, 소염 작용이 신속히 발현되는 것을 기대할 수 있다. 생체이용률의 지표로 볼 수 있는 AUC의 값을 비교해 보면, 피록시카ム 단독의 경우 4731.9 ng · hr/ml, 피록시카ム과 L-아르기닌의 복합체는 6538.6 ng · hr/ml로서 약 1.38배의 차이를 보였다. 종합적으로 약물 속도론적 파라미터를 비교해 보았을 때, 피록시카ム과 L-아르기닌의 복합체를 경구 투여하면 단독의 피록시카ム보다 신속한 약효 발현과 높은 생체이용률을 나타낼 것으로 기대된다.

결 론

물에 난용성인 피록시카ム을 L-아르기닌을 이용하여 용해성

을 개선하고 용출을 증대시켜 생체이용률을 높일 수 있는 경구용 제제를 개발하고자 연구한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 피록시캄과 L-아르기닌으로 복합체를 제조하여 IR 분광도법과 DSC를 이용하여 분석해 본 결과, 복합체가 형성되었음을 확인할 수 있었다.

2. 피록시캄의 복합체를 확산형 정제로 타정하여 용출 시험을 실시한 결과, 피록시캄 단독의 경우보다 용출 속도가 현저히 증가했으며 일반 확산형 정제보다 더 높은 용해성을 보였다.

3. 복합체를 토끼에게 경구 투여한 후, 약물 속도론적 파라미터를 구한 결과, 피록시캄 단독 투여시 보다 5배 정도 빨리 최고혈중 농도에 도달하였으며, C_{max} 는 유의성을 보이지 않았으나 AUC는 약 1.38배가 증가하여 생체이용률이 증가함을 알 수 있었다.

이상의 결과로부터 물에 난용성인 피록시캄을 L-아르기닌을 이용하여 복합체를 형성함으로써 약물의 용출 속도와 용출량의 증가를 유도하여 생체이용률을 개선할 수 있었으며, 나아가 액제나 경질 캡슐제 또는 연질 캡슐제 등 새로운 제형에도 응용할 수 있으리라 기대된다.

문 헌

- 1) Gerald K.M., *AHFS Drug Information*, ASHP, Inc., Wisconsin, U.S.A., pp. 2016-2020 (2002).
- 2) Karim A, Oxaprozin and piroxicam, nonsteroidal anti-inflammatory drugs with long half-lives: effect of protein-binding differences on steady-state pharmacokinetics. *J. Clin. Pharmacol.*, **37**, 267-278 (1997).
- 3) Sean CS, Martindale; *The Complete Drug Reference*, Pharmaceutical press, London, UK., pp. 79-80 (2002).
- 4) I.B. Koh and S.C. Shin and I.J. Oh, Enhancement of dissolution properties of poorly soluble drugs (IV): Micronization of furosemide by recrystallization method, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **18**, 55-59 (1998).
- 5) I.B. Koh, Y.B. Lee and S.C. Shin, Enhanced dissolution rates of piroxicam the ground mixture of chitin or chitosan, *Arch. Pharm. Res.* **9**, 55-61 (1986).
- 6) C.K. Kim and H.J. Shin, Soluble complex formation of rifampicin with arginine, *Yakhak Hoeji*, **27**, 11-19 (1983).
- 7) J. H. Kim and H.Y. Choi, Complexation of piroxicam and tenoxicam with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **30**, 33-37 (2000).
- 8) I.J. Oh, J.G. Park, Y.B. Lee and S.C. Shin, Inclusion complex of analgesic and anti-inflammatory agents with cyclodextrins (I): Enhancement of dissolution of ibuprofen by 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **23**, 11-18 (1993).
- 9) S.H. Park, C.H. Lee, Y.W. Choi, G.B. Park and J.K. Kim, Bioavailability studies on suspension of inclusion complexes of piroxicam with cyclodextrin, *Kor. J. Clin. Pharm.*, **1**, 9-14 (1991).
- 10) S.S. Jeon, H.R. Cha, Y.J. Park, B.C. Lee and N.D. Kim, Comparison of absorption rate between piroxicam- β -cyclodextrin and piroxicam in Korean healthy subjects after a single dose administration, *Kor. J. Clin. Pharm.*, **8**, 95-100 (1998).
- 11) E.S. Park, B.J. Yun and S.C. Chi, Pharmacokinetic and pharmacological evaluation of topical microemulsion preparation containing piroxicam, *J. Appl. Pharmacol.*, **7**, 54-58 (1999).
- 12) Y.B. Jun, S.I. Kim and Y.I. Kim, Effect of surfactants on dissolution rate of mefenamic acid capsules, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **20**, 121-127 (1990).
- 13) T.S. Lee and B.J. Lee, Enhancement of dissolution rate of poorly water-soluble ibuprofen using solid dispersions and inclusion complex, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **25**, 31-36 (1995).
- 14) J.H. Moon and I.K. Chun, Enhanced dissolution and permeation of biphenyl dimethyl dicarboxylate using solid dispersions, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **29**, 227-234 (1999).
- 15) G.S. Khang, J.M. Lee, H.C. Shin, H.B. Lee and J.K. Jeong, Effect of molecular weights and mixture ratios of polyvinylpyrrolidone on the bioavailability of ipriflavone solid dispersion, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **30**, 235-239 (2000).
- 16) Y.J. Lee, Y.G. Kim, M.G. Lee, S.J. Chung, M.H. Lee and C.K. Shim, Analysis of bioequivalence study using long-transformed model, *Yakhak Hoeji*, **44**, 308-314 (2000).