

## Clonixin Arginate의 약제학적 연구

智雄吉 · 羅成範

충남대학교 약학대학  
(1986년 3월 3일 접수)

## Pharmaceutical Study on Clonixin Arginate

Ung Kil Jee and Sung Bum La

College of Pharmacy, Chungnam National University

(Received March 3, 1986)

To increase the bioavailability of clonixin, clonixin arginate was prepared and compared with clonixin by determining solubility, pKa, lipid-water partition coefficient, dissolution rate and *in vivo* tests.

The results are summarized as followings; 1) The solubility of clonixin arginate was increased by 20 times in water, about 1.2 times in pH 1.2 and pH 8.0 buffer solution, and about 1.8 times in pH 6.8 buffer solution compared with that of clonixin. 2) pKa values of clonixin, clonixin lysinate and clonixin arginate were 6.32, 7.20 and 7.45, respectively. 3) The lipid-water partition coefficient of clonixin arginate was increased more than that of the clonixin in n-hexane, carbon tetrachloride, chloroform, methylene chloride, and n-butanol, but the partition coefficient of clonixin was increased more than that of clonixin arginate in benzene/pH 1.2 buffer solution, ether/pH 8.0 buffer solution, and 3-methylbutyl acetate/pH 1.2, pH 8.0 buffer solution. 4) The time required to dissolve 60% ( $T_{60\%}$ , min.) of clonixin arginate was about 1.5 min. in water and pH 1.2 buffer solution, and about 5 min. in pH 6.8 buffer solution.  $T_{60\%}$  of clonixin lysinate was about 1.5 min. in water, about 1.8 min. in pH 6.8 buffer solution, and about 8 min. in pH 1.2 buffer solution. But  $T_{60\%}$  of clonixin was about 96 min. in pH 6.8 buffer solution, over 2 hours in water and pH 1.2 buffer solution. 5) Anti-inflammatory effect of clonixin arginate was increased more than that of clonixin over 6 hours, and that of clonixin lysinate was followed by lapse of time. 6) Analgesic effect of clonixin arginate was increased by 1.5 times more than that of clonixin and the effect of clonixin arginate was nearly identical with that of clonixin lysinate. 7) The absorption rates ( $K_a$ ) of clonixin, clonixin lysinate and clonixin arginate were  $0.169 \text{ hr}^{-1}$ ,  $0.652 \text{ hr}^{-1}$  and  $0.723 \text{ hr}^{-1}$  *in situ*, respectively.

난용성 약물을 경구투여할 경우 위장관에서 흡수를 높이기 위하여 용해도를 높이는 방법이 많이 보고되었다. 가용화 방법으로 수용성 고분자 화합물을 사용하여 공침물을 형성시켜 soild dispersion을 만드는 방법<sup>1-5)</sup>, cyclodextrin등을 사용하여 inclusion complex를 형성시킴으로써 가용화시켜 생체이용율을 개선시키는 방법<sup>6-14)</sup> 등이 보고되었다.

amino acid를 이용한 가용화 방법으로서, 金 등<sup>15)</sup>은 rifampicin과 arginine간의 가용성 com-

plex 형성에 관한 보고에서 rifampicin이 arginine과 1:1로 complex를 이루며 complex 형성에 의하여 rifampicin의 용해도가 크게 증가하였고, 인공장액에서의 막투과속도가 약 2 배 증가하였는데 이는 용출속도의 증가에 기인한 것이라고 보고하였다.

李 등<sup>16)</sup>은 ketoprofen lysinate가 ketoprofen보다 혈중농도가 1.5배 높았으며, 소염작용, 진통작용 및 해열작용이 ketoprofen보다 증가하였고, 급성독성도 좋은 결과를 나타내었다고

보고하였다. 또한 *李등*<sup>17)</sup>은 indoprofen lysinate가 indoprofen보다 human serum albumin의 동일한 결합부위에서 약한 결합력을 갖는 것으로 보고하였다.

이에 저자는 1970년대 초반에 개발된 비 steroid성 진통소염제인 clonixin, 2-(3-chloro-*o*-toluidino) nicotinic acid의 생체 이용율을 높이고자 염기성 amino acid인 arginine을 사용하여 clonixin argininate를 제조하고, clonixin lysinate를 같은 방법으로 제조하여 용해도, pKa, 유수분배계수 및 용출속도를 측정하였으며 또한 부종억제, 진통효과 및 *in situ*에 의한 장관 흡수 실험을 행하여 비교 검토한 결과를 보고한다.

## 실험방법

### 시약

clonixin (Dae Hee Chemical Co.), *l*-arginine (Merck Co., special grade), *l*-lysine (Sigma Chemical Co.)을 사용하였으며 기타 시약은 시판 특급 혹은 일급을 사용하였다.

### 기기

micromelting point apparatus (Büchi), infrared spectrophotometer (Perkin Elmer, model 783), UV/Visible spectrophotometer (Pye Unicam PU 8800), differential scanning calorimeter (Perkin Elmer, DSC-4), X-ray diffractometer (Rigaku Denki, model 2028), pH meter (Corning, Delta 120), dissolution tester (Eyela, DE-1S)와 microtube pump (Eyela, MP-3) 등을 사용하였다.

### Clonixin Argininate와 Clonixin Lysinate의 제조

clonixin (M. W. 262.70) 10.508g을 methanol 300ml에 현탁시키면서 65°C로 가온하여 용해시키고 여기에 *l*-arginine (M. W. 174.20) 6.968g (몰비 1:1)을 물 15ml에 용해시키고 65°C로 가온한 것을 소량씩 가하면서 3시간 반응시키고 이를 여과한 후 감압농축시킨 다음 70% ethanol로 정제하였다. 이를 분말(100~200mesh)로 하여 시료로 사용하였다. clonixin lysinate

의 제조는 clonixin 6.568g을 methanol 200ml에 현탁시키면서 65°C로 가온하여 용해시키고 *l*-lysine (M. W. 146.19) 3.655g (몰비 1:1)을 물 10ml에 용해시켜 같은 방법으로 제조하였다.

### 용점측정

clonixin, clonixin argininate, clonixin과 arginine의 혼합물 (몰비 1:1), clonixin lysinate 및 clonixin과 lysine의 혼합물 (몰비 1:1)에 대하여 용점을 측정하였다.

### 적외흡수측정

clonixin, clonixin lysinate 및 clonixin argininate를 KBr disk method에 의해 측정하였다.

### 示差走査열량측정

약물 약 3mg에 상당하는 시료를 10°C/min.의 승온속도로 50~350°C의 온도범위에서 aluminum pen을 사용하여 측정하였다.

### 분말 X선 회절측정

Ni-filtered-K $\alpha$  radiation (1.5418Å)을 광원으로, voltage 30KV, current 15mA의 조건으로 회절각 (2 $\theta$ ) 5~50°C의 범위에서 走査速度 4°C/min.으로 측정하였다.

### 용해속도측정

분말법<sup>18)</sup>에 의한 방법으로 100ml의 비이커에 용매로 정제수, pH 1.2 완충액 (USP XXI), pH 6.8 완충액 (USP XXI) 및 pH 8.0 완충액 (USP XXI) 50ml씩을 넣고, clonixin 100mg과 이에 대응량인 clonixin argininate 159.46mg을 가하고 30°C에서 stirrer (150rpm)로 교반하였다. 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180분마다 2ml씩 취하여 0.8 $\mu$ m Millipore filter로 여과하고, 여액 1ml를 40배 희석하여 328nm에서 흡광도를 측정하였다. 용액을 취한 다음 같은 양의 용매를 추가하여 용적을 일정하게 하였다.

### pKa 측정<sup>18-29)</sup>

Hasegawa 등의 liquid-liquid partition방법에 따라 실험하였다. 즉 clonixin (1 $\times$ 10<sup>-4</sup>M)을 함유시킨 수상, pH 6.0 인산염 완충액과 0.1N HCl 용액 각각 5ml에 *n*-heptane, *n*-hexane 5ml씩을 각각 가하여 마개 달린 시험관에 넣고 incubator에서 25 $\pm$ 0.1°C의 온도로 진탕시키면서 2시간 동안 incubation 하였다. 시험

관을 3000 rpm으로 5분 동안 원심분리시킨 다음 incubator에서 60분간 정치시켜 수상의 pH를 즉시 측정하고 각 층의 약물을 328 nm에서 정량하였다. clonixin arginate ( $1 \times 10^{-4}$  M)와 clonixin lysinate ( $1 \times 10^{-4}$  M)를 함유한 pH 8.0 인산염 완충액과 0.1 N NaOH 각각 5 ml에 n-heptane, n-hexane 5 ml씩을 넣고 위와 같은 방법으로 처리하여 측정하였다.

#### 유수분배계수<sup>30-35)</sup>

Hogben 등이 실험한 flask shaking method로서 clonixin 10 mg과 이의 대응량인 clonixin arginate 15.946 mg을 유상으로 포화시킨 pH 1.2, pH 6.8 및 pH 8.0 완충액(USP XXI)에 용해시켰다(20  $\mu$ g/ml). 이를 마개 달린 시험관에 10 ml씩 넣고 수상으로 포화시킨 n-hexane, carbon tetrachloride, benzene, ether, chloroform, methylene chloride, 3-methylbutyl acetate 및 n-butanol을 각각 10 ml씩 가한 다음 30°C에서 1시간 진탕시키고 12시간 방치하여 수상을 취한 것을 328 nm에서 흡광도를 측정하였다.

유수분배계수 ( $K_{o/w}$ )는 다음 식에 따라 계산하였다.

$$K_{o/w} =$$

$$\frac{\text{initial concn. of water layer-equilibrated concn. of water layer}}{\text{equilibrated concn. of water layer}} \quad (1)$$

#### 용출시험<sup>36-47)</sup>

대한약전 제 4 개정에 준하여 paddle 법으로 실험하였으며 disk는 IR spectrophotometer model 783의 punch로 diameter 13 mm, 10 ton의 압력으로 3분 동안 압축하여 제조하였다. 용매는 정제수, pH 1.2 및 pH 6.8 완충액(USP XXI)을 사용하였는데, 용매 900 ml를 각각 용기내에 넣고 disk를 가하고 37  $\pm$  0.5°C에서 100 rpm으로 교반하면서 1, 2, 3, 4, 5, 10, 30, 60, 90, 120분마다 일정 위치에서 용출액 10 ml씩을 취한 다음 0.45  $\mu$ m Millipore filter로 여과하고 여액 5 ml를 5배 희석하여 328 nm에서 흡광도를 측정하였다. 용출액을 취한 후에 같은 양의 용매를 추가하여 용적을 일정하게 하였다.

#### 부종억제실험<sup>17, 48-50)</sup>

Sprague-Dawley계 웅성 체중 200 g 내외의 rat를 실험전 24시간 동안 물만을 공급해 주고 절식시킨 rat 5마리를 1군으로 하여 1% carrageenin solution을 오른쪽 뒷발 피하에 0.1 ml씩 주사하고 0.1% CMC solution에 현탁시킨 clonixin 50 mg/kg, clonixin lysinate 74.4 mg/kg (clonixin 50 mg과 대응량) 및 clonixin arginate 79.7 mg/kg (clonixin 50 mg과 대응량)을 각각 경구투여한 다음 오른쪽 뒷발 바닥의 용적을 측정하고 6시간 동안 매 시간마다 일어나는 발의 용적을 측정하여 용적의 증가율과 부종억제율을 계산하였다.

부종증가율 및 부종억제율은 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{부종증가율}(\%) = \frac{V_t - V_n}{V_n} \times 100 \quad (2)$$

$V_t$ : 주입후 일정시간 후의 용적

$V_n$ : 주입 직후의 용적

부종억제율(%)

$$= \frac{\text{부종증가율(대조군)} - \text{부종증가율(처리군)}}{\text{부종증가율(대조군)}} \times 100 \quad (3)$$

#### 진통효과실험<sup>17, 50)</sup>

ICR계 웅성, 체중 20-25g의 mouse를 실험전 물만 공급해 주고 절식시킨 mouse 5마리를 1군으로 하여 clonixin 50 mg, clonixin lysinate 74.4 mg (clonixin 50 mg과 대응량) 및 clonixin arginate 79.9 mg (clonixin 50 mg과 대응량)을 0.1% CMC solution 10 ml에 현탁시킨 다음 체중 kg당 50 mg단위 (0.1 ml/10g)로 경구투여하였다. 30분 후에 0.7% acetic acid를 0.1 ml/10g 단위로 복강내 주사한 다음 10분후부터 20분까지에 일어나는 mouse의 stretching 수를 측정하여 그 억제작용을 산출하였다.

#### In Situ 환류장관 흡수실험<sup>30, 51-69)</sup>

rat를 사용하여 12% urethane을 1 ml/kg당위로 복강내 주사하여 마취시키고 고정대에 배위 고정된 다음 복부의 중앙선을 개복하여 십이지장 상부에 silicone tube를 꽂고 묶었다. 소장하부를 절개하여 37°C의 생리식염수로 20분 동안 5 ml/min.의 속도로 환류시켜 소장의 내

용물을 세척한 다음, 다시 Schanker 등<sup>51)</sup>의 완충액 (pH 7.2) 으로 30분동안 환류시키고, 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 phenol red 40ml를 5ml/min.의 속도로 환류시키면서 0, 5, 10, 15, 20, 30, 60분마다 환류액 1ml씩을 취하고, 완충액 1ml씩을 추가하여 용적이 동일하게 하였다. 취한 환류액 1ml를 0.45  $\mu\text{m}$  Millipore filter로 여과한 다음 여액 0.5ml에 1N NaOH용액 1.5ml씩을 가하여 알카리성으로 한 것을 550nm에서 흡광도를 측정하여 희석율을 보정하는 수치로 하였다.

다시 Schanker 등의 완충액으로 30분간 환류시킨 다음 완충액에 clonixin 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , clonixin lysinate 44.64  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (clonixin 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 대응량) 및 clonixin arginate 47.84  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (clonixin 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 대응량)가 함유되도록 한 용액 40ml씩을 37°C에서 5 ml/min.의 속도로 환류시키면서 0, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120분마다 환류액 1ml씩을 취하고, 완충액 1ml씩을 추가하여 용적을 동일하게 한 다음 환류액 1ml를 0.45  $\mu\text{m}$  Millipore filter로 여과하고 여액 0.5ml에 완충액으로 4배 희석하여 328nm에서 흡광도를 측정하여 다음식으로 잔존율을 계산하였다.

$$\text{잔존율}(\%) = 100 \times \left( \frac{C_{Dt}}{C_{Do}} \cdot \frac{C_{Io}}{C_{It}} \right) \quad (4)$$

$$= 100 \times \left( \frac{A_{Dt}}{A_{Do}} \cdot \frac{A_{Io}}{A_{It}} \right) \quad (5)$$

$C_{Do}$ ,  $C_{Dt}$  : 시간 o, t에서의 약물농도

$C_{Io}$ ,  $C_{It}$  : 시간 o, t에서의 phenol red의 농도

$A_{Do}$ ,  $A_{Dt}$  : 시간 o, t에서의 약물의 흡광도

$A_{Io}$ ,  $A_{It}$  : 시간 o, t에서의 phenol red의 흡광도

## 실험결과 및 고찰

### 용점

clonixin arginate가 121.4°C로서 clonixin이 234~235°C이고 arginine이 229.6°C인데 비하여 clonixin과 arginine의 혼합물(몰비 1:1)의 용점은 146.5°C이었다. 또한 clonixin lysinate의 용점은 152.5°C로서 lysine이 206.4°C

인데 비하여 clonixin과 lysine의 혼합물(몰비 1:1)의 용점은 195.6°C이었다.

### IR Spectra

Fig. 1에서 나타난 바와 같이 1680  $\text{cm}^{-1}$ 의 -COOH기의 peak가 clonixin arginate와 clonixin lysinate에서 소실되어 나타났으므로 clonixin과 arginine 및 lysine이 반응하였음을 확인할 수 있었다.

### UV Spectra

Fig. 2에서 나타난 바와 같이 clonixin의  $\lambda_{max}^{\text{H}_2\text{O}}$ 는 250.9nm 및 328nm에서 나타났는데, clonixin arginate의  $\lambda_{max}^{\text{H}_2\text{O}}$ 는 250.9nm, 279.4nm 및 328nm에서 나타나 clonixin이나 clonixin과 arginine의 혼합물에서는 볼 수 없는 279.4nm의 peak가 새로 생긴 것으로 보아 clonixin과

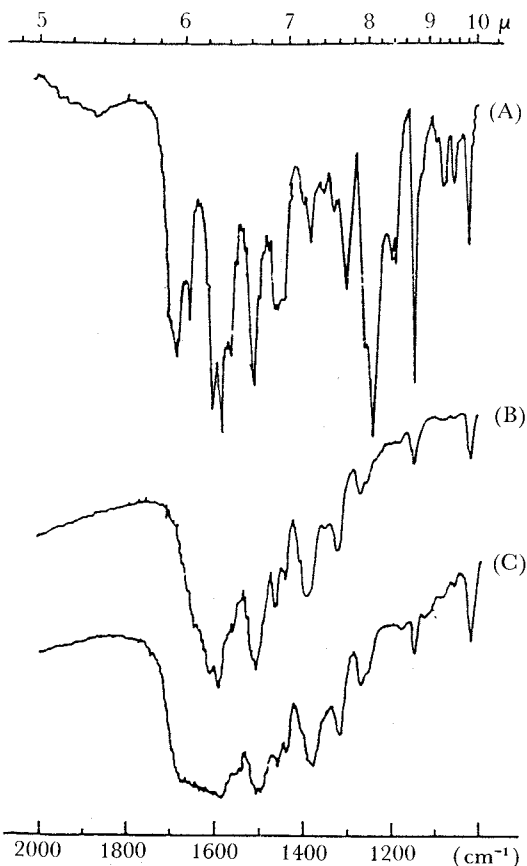


Figure 1 — IR absorption spectra of clonixin, clonixin lysinate and clonixin arginate.

Key: (A), clonixin; (B), clonixin lysinate; (C), clonixin arginate.

arginine이 반응하였음을 확인할 수 있었다.

#### 示差走査열량

Fig. 3에서 arginine 및 arginine과 clonixin의 혼합물에서는 100°C 부근에서 arginine에 의한 peak가 그대로 나타났으나, clonixin arginate에서는 이 peak가 사라진 것으로 보아 clonixin과 arginine이 서로 반응하였음을 알 수 있었다.

#### 분말 X 선회절

Fig. 4에서와 같이 clonixin arginate의 회절 pattern은 clonixin 단독이나 혼합물(몰비 1:1)과는 다르게 결정 형성이 둔화되었다.

#### 용해속도

Fig. 5~8에 나타난 바와 같이 10분에서 20분 내에 평형에 도달하였으며, clonixin argi-

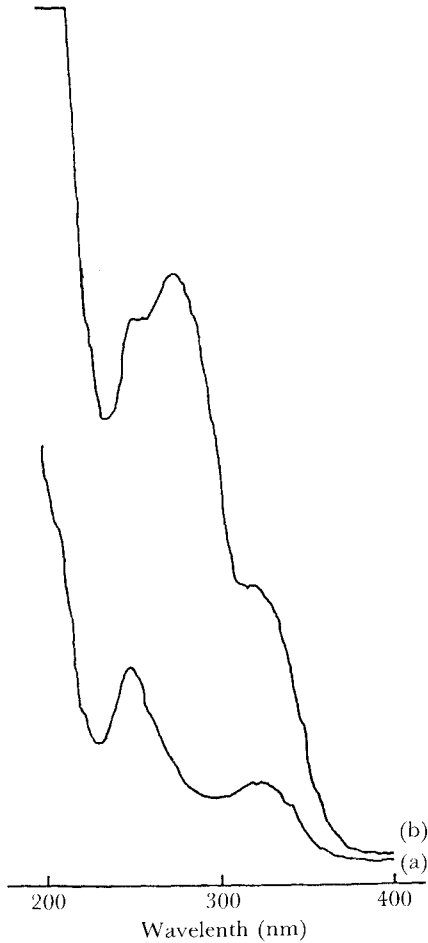


Figure 2 — UV absorption spectra of clonixin (a) and clonixin arginate (b)

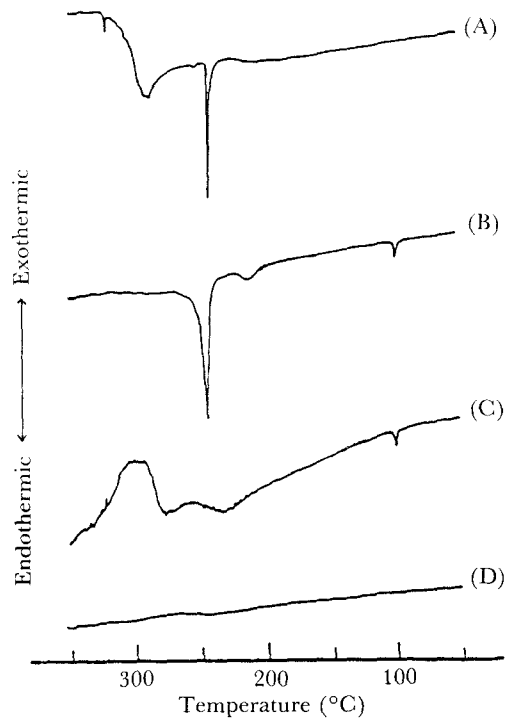


Figure 3 — DSC thermograms of clonixin arginate system.

Key: (A), clonixin; (B), arginine; (C), physical mixture of clonixin and arginine; (D), clonixin arginate

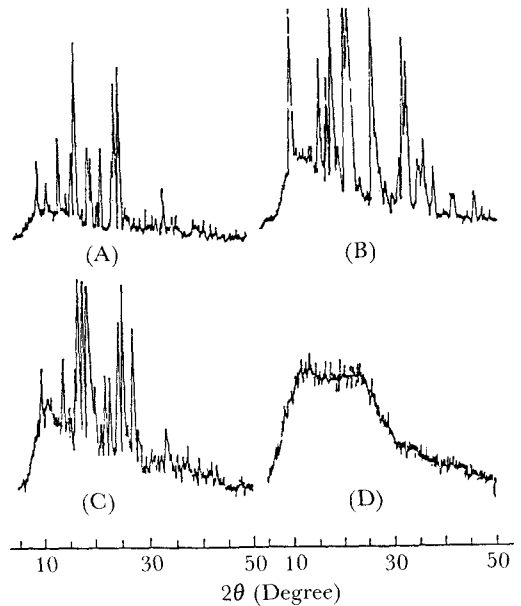
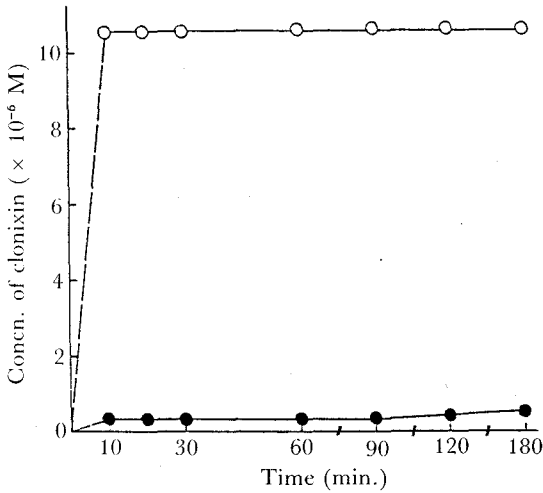


Figure 4 — Powder X-ray diffraction patterns.

Key: (A), clonixin; (B), arginine; (C), physical mixture of clonixin and arginine (molar ratio, 1:1); (D), clonixin arginate

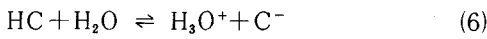


**Figure 5** — Solubility of clonixin and clonixin arginate in water at 30°C by powder method.  
Key: —○—, clonixin arginate; —●—, clonixin

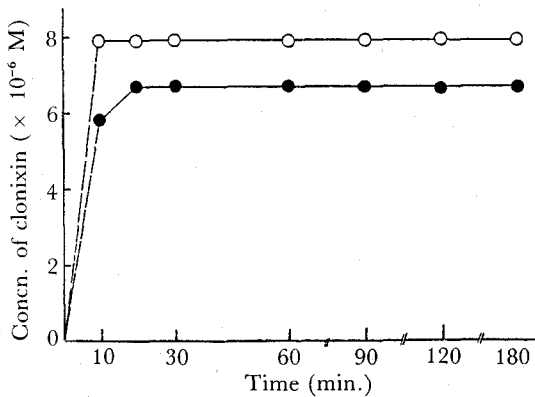
inate의 용해도가 clonixin보다 물에서는 약 20배, pH 1.2 및 pH 8.0 완충액에서는 약 1.2배, pH 6.8 완충액에서는 약 1.8배 증가하였다.

**pKa**

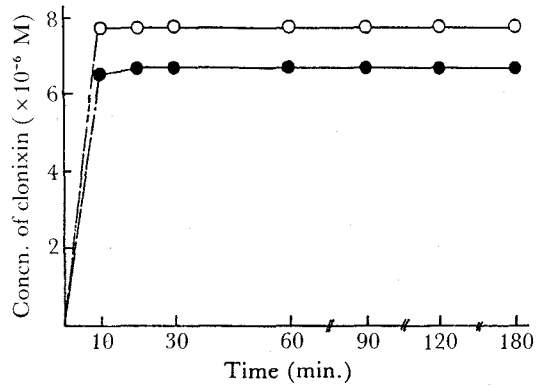
Hasegawa 등<sup>18)</sup>의 식을 도입하면, clonixin은 약산성 약물이므로



$$K_a = \frac{[H_3O^+][C^-]_w}{[HC]_w} \quad (7)$$



**Figure 6** — Solubility of clonixin and clonixin arginate in pH 1.2 buffer solution at 30°C by powder method.  
Key: —○—, clonixin arginate; —●—, clonixin



**Figure 7** — Solubility of clonixin and clonixin arginate in pH 6.8 buffer solution at 30°C by powder method.  
Key: —○—, clonixin arginate; —●—, clonixin

$$pK_a = pH + \log \frac{[HC]_w}{[C^-]_w} \quad (8)$$

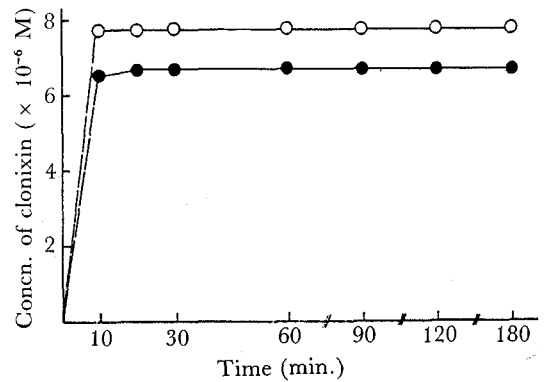
와 같이 된다.

만일 이온화 분자의 농도가 유기상에서 비이온화 분자의 농도보다 훨씬 작게 되면, 즉  $[C^-]_o \ll [HC]_o$  일 때 apparent partition coefficient ( $P_{app}$ )는 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$P_{app} = \frac{[HC]_o + [C^-]_o}{[HC]_w + [C^-]_w} \approx \frac{[HC]_o}{[HC]_w + [C^-]_w} \quad (9)$$

정의로부터 true partition coefficient ( $P_m$ )는

$$P_m = \frac{[HC]_o}{[HC]_w} \quad (10)$$



**Figure 8** — Solubility of clonixin and clonixin arginate in pH 8.0 buffer solution at 30°C by powder method.  
Key: —○—, clonixin arginate; —●—, clonixin

**Table I** - *pKa Determination of Clonixin, Clonixin Lysinate and Clonixin Arginate by Liquid-Liquid Partition.*

Solvent	Clonixin	Clonixin lysinate	Clonixin arginate
n-Heptane	6.38 ± 0.090*	7.21 ± 0.169	7.43 ± 0.197
n-Hexane	6.26 ± 0.157	7.19 ± 0.211	7.46 ± 0.193

\*Values are mean ± SD for five experiments.

이므로 (9)식의  $[HC]_o$  대신 (10)식의  $P_m \times [HC]_w$  를 대입하여 정리하면 (11)식이 얻어지고

$$\frac{[HC]_w}{[C^-]_w} = \frac{P_{app}}{P_m - P_{app}} \quad (11)$$

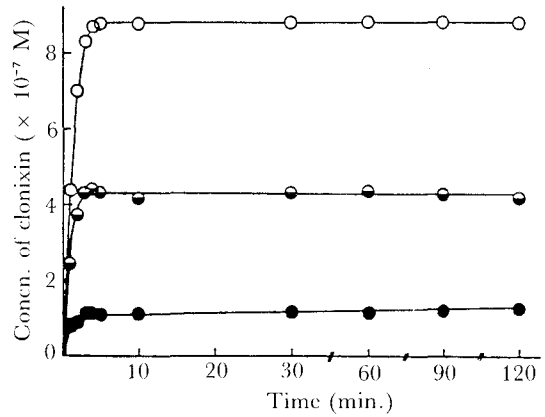
(11)식을 (8)식에 대입하여 정리하면 (12)식이 얻어진다.

$$pKa = pH + \log \frac{P_{app}}{P_m - P_{app}} \quad (12)$$

또한 clonixin lysinate 및 clonixin arginate는 약염기성 약물이므로 상기한 식들로부터 다음 식을 얻을 수 있다.

$$pKa = pH + \log \frac{P_m - P_{app}}{P_{app}} \quad (13)$$

따라서 clonixin은 인산염 완충액 (pH 6.0) 을 수상으로 사용한 것으로부터  $P_{app}$  값을 얻고, 0.1 N HCl을 수상으로 사용한 것으로부터  $P_m$ 을 얻



**Figure 9** — Dissolution profiles of clonixin, clonixin lysinate and clonixin arginate in water at  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  by paddle method.

Key: — ○ —, clonixin arginate; — ● —, clonixin lysinate; — ● —, clonixin

어 식 (12)에 적용시켜 pKa 값을 산출하였고, clonixin lysinate와 clonixin arginate에서는 인산염 완충액 (pH 8.0) 과 0.1 N NaOH 용액을 수상으로 사용한 것으로부터 각각  $P_{app}$  및  $P_m$  값을 얻어 식 (13)에 적용시켜 pKa 값을 산출하였다. 그 결과 Table I에 나타난 바와 같이 clonixin은 6.38, 6.26이고 clonixin lysinate는 7.21, 7.19, clonixin arginate는 7.43, 7.46으로 나타났다.

용매로 n-heptane, n-hexane을 사용한 이유는 유기용매로 수상이 오염되는 것을 최소로 하

**Table II** - *Comparison on Lipid-Water Partition Coefficient of Clonixin and Clonixin Arginate.*

Solvent	Lipid-water partition coefficient ( $\times 10^{-1}$ )					
	pH 1.2 Buffer soln		pH 6.8 Buffer soln		pH 8.0 Buffer soln	
	Clonixin	Clonixin arginate	Clonixin	Clonixin arginate	Clonixin	Clonixin arginate
n-Hexane	0.4447	0.4671	0.6765	1.0352	1.0046	1.9476
Carbon tetrachloride	0.1315	0.4030	1.7998	1.9003	0.4227	0.5734
Benzene	0.8740	0.8559	2.9013	3.8054	0.3796	0.4415
Ether	37.8211	77.7864	42.5714	69.5872	4.1036	3.2488
Chloroform	1.2273	2.2183	3.2961	6.3313	0.6732	0.6915
Methylene chloride	2.7259	2.7944	6.7596	6.7955	0.4977	0.5597
3-Methylbutyl acetate	22.4876	20.7133	31.6045	31.8280	7.0445	0.3539
n-Butanol	28.0785	28.6838	40.8083	45.7576	46.4593	47.4924

\*Values are mean for five experiments.

**Table III** — Time Required to Dissolve 60% of Clonixin, Clonixin Lysinate and Clonixin Arginate Content ( $T_{60\%}$ , min.) in Various Solvents.

Drug	Solvent	$T_{60\%}$ , min.
Clonixin	dist. water	>120
	pH 1.2 buffer solution	>120
	pH 6.8 buffer solution	96
Clonixin lysinate	dist. water	1.5
	pH 1.2 buffer solution	7.6
	pH 6.8 buffer solution	1.8
Clonixin arginate	dist. water	1.5
	pH 1.2 buffer solution	1.6
	pH 6.8 buffer solution	4.8

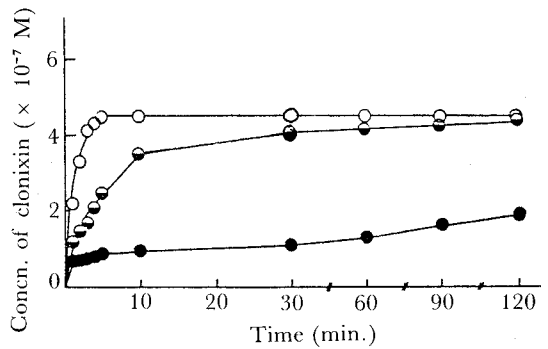
기 위하여, 분배실험에서의 물에 용해도가 낮은 paraffinic hydrocarbons를 유기용매로 택하여 실험하였다.

**유수분배계수**

Table II에서 보는 바와 같이 n-hexane, carbon tetrachloride, chloroform, methylene chloride, n-butanol에서는 pH 1.2, pH 6.8 및 pH 8.0 완충액에서 clonixin arginate 유수분배계수가 clonixin 보다 증가하였으나, benzene/pH 1.2 완충액, ether/pH 8.0 완충액과 3-methylbutyl acetate/pH 1.2, pH 8.0 완충액에서는 clonixin이 clonixin arginate보다 유수분배계수가 증가되었다.

**용출속도**

각 용매별로 보면 물에서는 Fig. 9에서와 같



**Figure 10** — Dissolution profiles of clonixin, clonixin lysinate and clonixin arginate in pH 1.2 buffer solution at  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  by paddle method. Key: —○—, clonixin arginate; —●—, clonixin lysinate; —●—, clonixin.

이 약 5분대에 평형에 도달하였으며, clonixin arginate의 용출속도가 clonixin보다 약 7.6배, clonixin lysinate 보다는 약 2배 증가하였다.

pH 1.2 완충액에서는 clonixin arginate가 약 5분에 평형에 도달하였으며, clonixin lysinate는 시간이 경과함에 따라 용출이 증가되어 120분대에는 clonixin arginate와 거의 비슷하였고, clonixin도 시간이 경과함에 따라 용출이 증가하였다(Fig. 10).

pH 6.8 완충액에서는 clonixin arginate가 약 30분에, clonixin lysinate가 약 10분대에 평형에 도달하였으며, clonixin은 시간이 경과함에 따라 용출이 증가하였다(Fig. 11).

정제가 60% 용출하는데 요하는 시간 ( $T_{60\%}$ , min.)을 보면 Table III와 같다.

clonixin은 정제수와 pH 1.2 완충액에서는 120

**Table IV** — Inhibitory Effect of Clonixin, Clonixin Lysinate and Clonixin Arginate on the Swelling of Rat Hind Paw.

Drug	Inhibitory (%)					
	1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	5 hr	6 hr
Clonixin	51.36 ±2.78 <sup>+</sup>	27.97 ±1.90	25.10 ±2.02	44.79 ±3.04	37.68 ±2.78	50.76 ±3.37
Clonixin lysinate	67.53 <sup>**</sup> ±2.62	30.08 <sup>*</sup> ±1.18	27.55 <sup>*</sup> ±1.69	41.41 <sup>*</sup> ±3.71	53.32 <sup>**</sup> ±2.37	60.64 <sup>*</sup> ±2.29
Clonixin arginate	62.72 <sup>**</sup> ±1.59	35.44 <sup>**</sup> ±2.55	32.73 <sup>**</sup> ±3.33	53.80 <sup>**</sup> ±3.52	53.06 <sup>**</sup> ±4.29	67.43 <sup>*</sup> ±2.33

<sup>+</sup>Values are mean ± S.E. from five rats. \*p < 0.05. \*\*p < 0.01



**Table V** - Analgesic Effect of Clonixin, Clonixin Lysinate and Clonixin Arginate in Mouse by Acetic Acid Method.

Drug	Dose (mg/kg)	Inhibition (%)
Clonixin	50	45.25 ± 1.8 <sup>+</sup>
Clonixin lysinate	74.4 (50 as Clonixin)	68.94 ± 0.375*
Clonixin arginate	79.7 (50 as Clonixin)	69.70 ± 0.447*

<sup>+</sup>Values are mean ± S.E. from five mice.

\*p < 0.01

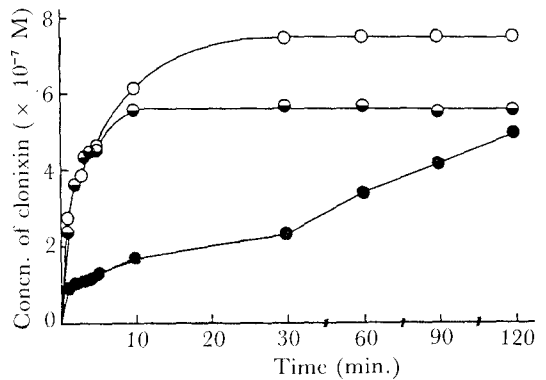
분대에서도 T<sub>60%</sub>에 도달하지 못하였으며, pH 6.8 완충액에서는 거의 100분대가 다 되어서야 도달하였다.

clonixin lysinate와 clonixin arginate를 보면 정제수에서는 모두 1.5분대, pH 1.2 완충액에서는 clonixin arginate가 T<sub>60%</sub>에 더 빨리 도달했으며, pH 6.8 완충액에서는 clonixin lysinate가 더 빨리 도달하였다.

#### 부종억제

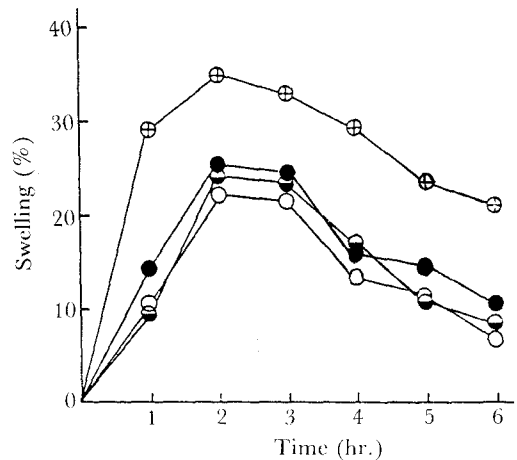
Fig. 12에 나타난 바와 같이 대조군의 부종은 시간이 경과함에 따라 증진되어 2시간 후에는 35%나 증진되어 peak를 나타냈으며 그 이후 6시간 후에는 서서히 즉 부종이 감소되어 20% 정도를 나타냈으나, 약물 투여군의 즉 부종은 2시간 후에 25% 정도, 6시간 후에는 10% 정도로서 유의성 있는 억제효과를 나타냈다.

각 약물간의 억제율을 비교하면 Table IV에서와 같이 6시간 후에까지 clonixin arginate가 clonixin에 비해 크게 나타났으며, clonixin lysinate와 비교하면 1시간 후에는 clonixin



**Figure 11** — Dissolution profiles of clonixin, clonixin lysinate and clonixin arginate in pH 6.8 buffer solution at 37 ± 0.5°C by paddle method.

Key: —○—, clonixin arginate; —●—, clonixin lysinate; —●—, clonixin



**Figure 12** — The effect of clonixin, clonixin lysinate and clonixin arginate on the swelling of rat hind paw induced by carrageenin.

Key: —⊕—, control; —●—, clonixin; —●—, clonixin lysinate; —○—, clonixin arginate

**Table VI** - Percentage of Remaining Unabsorbed Drugs by Recirculating System.

Drug	Percent remaining unabsorbed (%)							
	5	10	15	20	30	60	90	120 (min.)
Clonixin	90.60 ±2.43 <sup>+</sup>	88.38 ±2.40	85.60 ±3.43	81.29 ±2.29	78.32 ±3.83	75.81 ±2.67	71.25 ±2.20	62.19 ±4.43
Clonixin lysinate	87.89* ±2.31	85.30* ±2.69	78.20* ±2.67	69.98** ±3.63	65.80** ±4.61	50.15** ±3.44	36.57** ±4.45	24.71** ±2.86
Clonixin arginate	87.50* ±2.59	82.18* ±2.59	75.31** ±2.31	66.78** ±2.39	60.43** ±3.43	44.55** ±3.05	30.13** ±2.53	21.19** ±2.39

<sup>+</sup>Values are mean ± S.E. from five rats. \*p < 0.05. \*\*p < 0.01

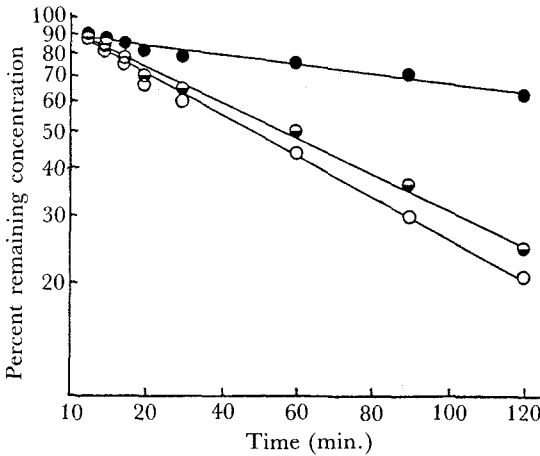


Figure 13 — Semilogarithmic plots of percent drug remaining concentration of clonixin arginate system versus time by *in situ*.

Key: —●—, clonixin; —○—, clonixin lysinate; —●—, clonixin arginate

lysinate가 조금 높은 것으로 나타났으나 그 이후 6 시간대까지 clonixin arginate의 부종억제율이 높게 나타났다.

**진통작용**

초산으로 일으킨 stretching에 대한 억제작용을 측정한 결과는 Table V와 같다. 50mg/kg의 clonixin에 해당하는 clonixin arginate의 통증억제율은 69.70%로서 clonixin의 통증억제율 45.25%보다 약 1.5배 강하게 나타났으며 clonixin lysinate는 68.94%로서 clonixin arginate와 통증억제율이 비슷하게 나타났다.

**In Situ 환류장관 흡수**

소화관내 약물 용액의 농도변화 (dC/dt)는 다음 식으로 나타내진다.

$$-\frac{dC}{dt} = kC \tag{14}$$

여기서 k는 1차 흡수속도정수이다.

t=0(약물 투여시)일 때 C=C<sub>0</sub> (투여량) 과 같으므로 이를 적분하면

$$\int_{C_0}^C \frac{1}{C} dC = - \int_0^t k dt \tag{15}$$

$$\ln C - \ln C_0 = -kt \tag{16}$$

(16)식을 상용대수로 변환하여 정리하면 다음

Table VII — Absorption Rate Constants of Clonixin, Clonixin Lysinate and Clonixin Arginate *in Situ*.

Drugs	k (hr <sup>-1</sup> )
Clonixin	0.196
Clonixin lysinate	0.652
Clonixin arginate	0.723

식과 같다.

$$\log C = -\frac{k}{2.303} t + \log C_0 \tag{17}$$

그런데 rat의 장관흡수 실험은 단순한 농도 변화가 아니고 용적변화를 보정해야 하므로 (4) 식과 (5) 식을 사용한다.

이 방법으로 나타낸 것이 Table VI이다.

Table VI에서 나타난 잔존율의 대수를 시간에 대하여 plot한 것이 Fig. 13이다.

Fig. 13에서 직선을 얻었으므로 이는 1차 속도에 따름을 알 수 있으며, 따라서 기울기로부터 k값을 구한 것이 Table VII이다.

따라서 clonixin arginate의 흡수속도 정수는 0.723 hr<sup>-1</sup>로 clonixin보다 약 3.7배, clonixin lysinate보다는 약 1.11배 정도 증가되었다.

**결 론**

진통소염제인 clonixin과 clonixin lysinate 및 clonixin arginate에 대한 물리화학적 실험과 동물실험을 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 용해도는 clonixin arginate가 clonixin보다 물에서는 약 20배, pH 1.2 및 pH 8.0 완충액에서는 약 1.2배, pH 6.8 완충액에서는 약 1.8배 증가하였다.
2. clonixin의 pKa 값은 n-heptane에서 6.38, n-hexane에서 6.26 이었고, clonixin lysinate는 n-heptane에서 7.21, n-hexane에서 7.19 이었으며, clonixin arginate는 n-heptane에서 7.43, n-hexane에서 7.46이었다.
3. 유수분배계수는 clonixin arginate가 clonixin보다 n-hexane, carbon tetrachloride,

chloroform, methylene chloride 및 n-butanol에서 증가하였으나, benzene/pH 1.2 완충액, ether/pH 8.0 완충액 및 3-methylbutyl acetate/pH 1.2, pH 8.0 완충액에서는 clonixin이 높았다.

4. 용출속도는  $T_{60\%}$ 에 요하는 시간이 clonixin arginate가 정제수 및 pH 1.2 완충액에서 약 1.5분이었고, pH 6.8 완충액에서는 5분 이내이었으며, clonixin lysinate는 정제수에서 약 1.5분, pH 6.8 완충액에서 약 1.8분, pH 1.2 완충액에서 8분 이내이었으나, clonixin은 pH 6.8 완충액에서 약 96분이었고, 정제수와 pH 1.2 완충액에서는 2시간 이상이었다.

5. 부종억제 작용은 clonixin arginate 가 clonixin보다 6 시간까지 유의성 있는 억제효과를 나타내었고, clonixin lysinate 보다는 약간 효과가 높았다.

6. 진통작용은 clonixin arginate가 clonixin보다 약 1.5배 강하였으며, clonixin lysinate와는 비슷하였다.

7. *in situ*에 의한 환류장관 흡수 실험으로부터 구한 clonixin, clonixin lysinate 및 clonixin arginate의 흡수속도정수는 각각  $0.196 \text{ hr}^{-1}$ ,  $0.652 \text{ hr}^{-1}$  및  $0.723 \text{ hr}^{-1}$ 이었다.

## 문 헌

- 1) S.C. Shin, M.H. Lee and C.H. Woo, *J. Korean Pharm. Sci.*, **2**(3), 49 (1976)
- 2) I.K. Jeon, M.H. Lee and S.K. Kim, *J. Korean Pharm. Sci.*, **6**(3), 48 (1976)
- 3) J.I. Yong and B.S. Yu, *J. Korean Pharm. Sci.*, **10**(3), 33 (1980)
- 4) J.K. Kim and J.S. Eam, *J. Korean Pharm. Sci.*, **10**(4), 23 (1980)
- 5) Y.S. Ku and Y.M. Ahn, *J. Korean Pharm. Sci.*, **14**(1), 1 (1984)
- 6) F. Cramer, W. Saenger and H. Ch. Spatz, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 14 (1967)
- 7) K. Uekama, *Jap. J. Antibio.*, **32** Suppl., S-103 (1979)
- 8) S.T. Kim and S.K. Kim, *J. Korean Pharm. Sci.*, **12**(4), 132 (1982)
- 9) Y.I. Kim and Y.J. Park, *J. Korean Pharm. Sci.*, **14**(3), 136 (1984)
- 10) K. Uekama and F. Hirayama, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**(4), 1195 (1978)
- 11) K. Uekama, F. Hirayama, A. Fujise, M. Otagiri, K. Inaba and H. Saito, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 382 (1984)
- 12) K. Han, M.H. Lee and S.K. Kim, *J. Korean Pharm. Sci.*, **13**(1), 10 (1983)
- 13) K. Han, M.H. Lee and S.K. Kim, *J. Korean Pharm. Sci.*, **14**(1), 19 (1984)
- 14) K. Uekama, T. Fujinaga, M. Otagiri, H. Seo and M. Tsuruoka, *J. Pharm. Dyn.*, **4**, 735 (1981)
- 15) C.K. Kim and H.J. Shin, *Yakhak Hoeji*, **27**(1), 11 (1983)
- 16) 李琬夏, 柳柄泰, 智雄吉, 金東吉, 成均館大學校 論文集, 自然系 第35輯, No. 1, 7 (1984)
- 17) W.H. Lee, J.B. Kim, U.K. Jee and B.T. Rhyu, *J. Korean Pharm. Sci.*, **12**(2), 37 (1982)
- 18) J. Hasegawa, T. Fujita, Y. Hayashi, K. Iwamoto and J. Watanabe, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 442 (1984)
- 19) R.F. Cookson, *Chem. Rev.*, **74**, 5 (1974)
- 20) L.Z. Benet and J.E. Goyan, *J. Pharm. Sci.*, **56**, 665 (1967)
- 21) H.A. Krebs and J.C. Speakman, *J. Chem. Soc.*, 593 (1945)
- 22) C.C. Peck and L.Z. Benet, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 12 (1978)
- 23) R.H. Levy and M. Rowland, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1155 (1971)
- 24) H. Irving and C.F. Bell, *J. Chem. Soc.*, 1216 (1952)
- 25) E.M. Arnett, R.P. Quirk and J.J. Burke, *J. Am. Chem. Soc.*, **92**(3), 1260 (1970)
- 26) J. Kielland, *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 1675 (1937)
- 27) A.I. Biggs, *J. Chem. Soc.*, 2485 (1956)
- 28) L.A. Flexser, L.P. Hammett and A. Dingwall, *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 2103 (1935)
- 29) S.J. Jang, T.B. Yoon and I.S. Han, *Report of NIH, Korea*, **17**, 485 (1980)
- 30) C.A.M. Hogben, D.J. Tocco, B.B. Broide and L.S. Schanker, *J. Pharm. Exp. Ther.*, **125**, 275 (1959)
- 31) C. Golumbic, M. Orchin and S. Weller, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2624 (1949)

- 32) K. Ezumi and J. Kubota, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**(1), 85 (1980)
- 33) T.C. Butler, *J. Pharm. Exp. Ther.*, **108**, 474 (1953)
- 34) A. Lee and C. Hansch, *J. Org. Chem.*, **36**, 1539 (1971)
- 35) K. Kakemi, T. Arita, R. Hori and R. Konishi, *Chem. Pharm. Bull.*, **15**(11), 1705 (1967)
- 36) Korean Pharmacopea, 4th edition, 1109, 1982
- 37) The U.S. Pharmacopeia XXI and the National Formulary XVI, 1243-1244, 1985
- 38) G. Levy, J.M. Antkowiak, J.A. Procknal and D.C. White, *J. Pharm. Sci.*, **52**, 1047 (1963)
- 39) G. Levy and R.H. Gumtow, *J. Pharm. Sci.*, **52**, 1139 (1963)
- 40) K.A. Javaid and D.E. Cadwallader, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 1370 (1972)
- 41) D.J. Allen and K.C. Kwan, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 1190 (1969)
- 42) E. Nelson, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **48**, 96 (1959)
- 43) O.C. Samyn and W.Y. Jung, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 169 (1970)
- 44) T.R. Bates, J.M. Young, C.M. Wu and H.A. Rosenberg, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 643 (1974)
- 45) A.H. Goldberg, M. Gibaldi and J.L. Kanig, *J. Pharm. Sci.*, **55**, 487 (1966)
- 46) A.S. Rankell and T. Higuchi, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 574 (1968)
- 47) E. Nelson, *J. Amer. Pharm. Assoc.*, **97**, 297 (1958)
- 48) 趙台淳, 李善美, 成均館大學校 論文集, 自然系第 35 輯, No. 1, 39 (1984)
- 49) E.B. Lee, Y.S. Lee, and W.S. Woo, *Arch. Pharm. Res.*, **8**(3), 139 (1985)
- 50) T. Kameyama, F. Amanuma, S. Okuyama, S. Higuchi and H. Aihara, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **8**, 477 (1985)
- 51) L.S. Schanker, D.J. Tocco, B.B. Brodie and C.A.M. Hogben, *J. Pharmacol. Expt. Ther.*, **123**, 81 (1958)
- 52) L.S. Schanker, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **126**, 283 (1959)
- 53) J.T. Doluisio, N.F. Billups, L.W. Dittert, E.T. Sugita and J.V. Swintosky, *J. Pharm. Sci.*, **58**, 1196 (1969)
- 54) D. Perrier and M. Gibaldi, *J. Pharm. Sci.*, **62**, 225 (1973)
- 55) W.H. Barr and S. Riegelman, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 154 (1970)
- 56) W.H. Barr and S. Riegelman, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 164 (1970)
- 57) P.A. Shore, B.B. Brodie and C.A.M. Hogben, *J. Pharm. Exp. Ther.*, **119**, 361 (1957)
- 58) K. Kakemi, T. Arita and S. Muranishi, *Chem. Pharm. Bull.*, **13**, 861 (1965)
- 59) T. Koizumi, T. Arita and K. Kakemi, *Chem. Pharm. Bull.*, **12**, 413 (1964)
- 60) K. Kakemi, T. Arita and S. Muranishi, *Chem. Pharm. Bull.*, **13**, 969 (1965)
- 61) K. Kakemi, T. Arita, S. Muranishi and H. Matsui, *Yakugaku Zasshi*, **86**, 278 (1966)
- 62) K. Kakemi, T. Arita, R. Hori and R. Konishi, *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 1534 (1967)
- 63) D.L. Sorby, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 667 (1965)
- 64) T.C. Butler, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **44**, 367 (1955)
- 65) G. Levy and B. A. Sahli, *J. Pharm. Sci.*, **51**, 58 (1962)
- 66) G. Levy, J. R. Leonards and J.A. Procknal, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 1719 (1966)
- 67) E. Nelson, E.L. Knoechel, W.E. Hamlin and J.G. Wagner, *J. Pharm. Sci.*, **51**, 509 (1962)
- 68) R.A. O'reilly, E. Nelson and G. Levy, *J. Pharm. Sci.*, **55**, 435 (1966)
- 69) S.H. Wan, P.J. Pentikainen and D.L. Azarnoff, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 708 (1974)