

## 피록시캄 패취제의 소염, 진통 효능 및 피부자극시험

고광호\* · 조미정 · 이장훈 · 노민수 · 류재현 · 이진화

안재석<sup>1</sup> · 태주호<sup>1</sup> · 민동선<sup>1</sup> · 박병옥<sup>1</sup> · 김기협<sup>1</sup>

서울대학교 약학대학, <sup>1</sup>선경인더스트리 연구소

## Anti-inflammatory and Analgesic Activities, and Skin Irritation Test of Piroxicam Patch

Kwang Ho KO\*, Mijeong JO, Jang Hoon LEE, Min Su NOH, Jea Ryeon RYU,  
Jin Hwa LEE, Jae Suk AHN<sup>1</sup>, Joo Ho TAI<sup>1</sup>, Dong Sun MIN<sup>1</sup>,  
Pyeong Uk PARK<sup>1</sup> and Key Hyup KIM<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>R & D Center, Sunkyong Industries Co. Ltd. 600, Jungja-dong,  
Jangan-ku, Suwon, Kyungki-do 440-745, Korea

(Received January 26, 1994; accepted March 21, 1994)

**Abstract**—Anti-inflammatory and analgesic activities and skin irritation of piroxicam patch were investigated. Piroxicam patch increased the pain threshold in rat hind paw inflamed by carrageenan and inhibited writhing induced by acetic acid in mice. Piroxicam patch also inhibited the carrageenan-induced edema in rat hind paw as well as the increased vascular permeability induced by histamine in rats. In adjuvant arthritis of rats, piroxicam patch showed anti-inflammatory effects. Skin irritation of piroxicam patch was tested in Newzealand White rabbits and evaluated by Primary Irritation Index of Draize. The results from skin irritation test showed that piroxicam patch seemed practically non-irritating. The result from the present study indicates that piroxicam may be useful without serious side effects as anti-inflammatory analgesics in this patch form.

**Keywords** □ piroxicam patch, anti-inflammation, analgesia, skin irritation.

피록시캄은 비교적 최근에 소개된 항염증 및 진통제로 경구투여시 흡수가 잘 되기는 하나, 위장장애, 소화성 궤양 등의 부작용을 초래할 위험이 있고 부작용 때문에 약물 투여를 중단하는 경우도 있다. 따라서 이 부작용을 경감시킬 목적으로 피록시캄 패취제가 개발되었으며 본 연구에서는 이의 진통작용, 항염증 작용 및 피부자극성을 검색하고자 하였다.

### 실험방법

#### 실험동물

피록시캄 패취제의 진통 작용 및 항염증 작용의 검색에는 체중 200 g 전후의 Wistar계 웅성 rat를 사용하였다. 단 writhing test시는 체중 20 g 전후의 ICR계

mouse를 이용하였고 adjuvant 관절염 실험의 경우에는 체중 150 g 전후의 SD계 웅성 rat를 사용하였다. 피록시캄 패취제의 피부자극성 검색 실험에는 체중 2~3 kg의 Newzealand White (NZW)계 웅성 토끼를 사용하였다. 시험개시 전 순화기간을 약 1주일 두었으며 증상을 관찰하여 건강한 실험동물을 시험에 사용하였다. 시험기간 중 사육환경은 통상적인 조건(온도 23±3°C, 상대습도 50±10%)을 유지하였고, 사료와 물은 자유섭취시켰다.

#### 시험물질

시험물질인 Piroxicam patch(Lot No. PRX 930153)는 (주)선경인더스트리 연구소에서 공급받아 본시험에 사용하였다.

#### 진통작용 및 항염증 작용의 검색

피록시캄의 투여 용량은 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg, 50 mg/kg으로 하였다. 피록시캄 패취는 0.05 mg/cm<sup>2</sup>, 0.25 mg/cm<sup>2</sup>, 0.50 mg/cm<sup>2</sup>, 1.00

\* To whom correspondence should be addressed.

$\text{mg}/\text{cm}^2$ ,  $1.50 \text{ mg}/\text{cm}^2$ ,  $2.50 \text{ mg}/\text{cm}^2$ 의 농도로 약제를 포함하도록 제조되었고 이를 rat 체중 200 g을 기준으로  $2 \times 2 \text{ cm}$ 의 면적으로 점착한 후 침투성과 반응성이 없는 테이프(Tegaderm, 3 M)로 잘 고정하였다.

**압통역치의 측정 :** 1% Carrageenan 용액 0.1 ml를 Wistar계 웅성 rat의 발바닥에 피내 주사하여 염증을 유발하고 주사 전 2시간부터 주사 후 4시간까지 시험물질을 실험동물의 제모한 등부위에 적용하였다. 주사 후 4시간째에 Analgesy-Meter(Ugo Basile)를 이용하여 Randall and Selitto 법(Randall과 Selitto, 1957; Reizo 등, 1985)으로 압통역치를 측정하였다.

**Writhing Test :** ICR계 웅성 mouse의 제모한 등부위에 시험물질을 6시간 동안 적용한 후에 0.7% acetic acid 0.1 ml를 복강주사한 다음 주사 5분 후부터 10분간 writhing 횟수를 측정하였다.

**Carrageenan 발바닥 부종 :** Wistar계 웅성 rat의 발바닥에 1% carrageenan 0.1 ml를 주사하여 염증을 유발하고 주사 후 4시간에 Plethysmometer(Ugo Basile)로 발바닥 용적을 측정하여 부종율을 산출하였다. 시험물질은 주사 전 2시간부터 주사 후 4시간까지 실험동물의 제모한 등부위에 적용하였다.

**혈관투과성 향진 :** 시험물질을 Wistar계 웅성 rat의 제모한 등부위에 적용한 후 6시간에 생리식염수에 녹인 2.5% Evans blue 용액을 50 mg/kg 정맥주사하고 직후에  $10^{-5} \text{ g}/\text{ml}$  histamine용액 0.1 ml를 시험물질 적용 중심부에 피내 주사하였다. 다시 30분 후에 쥐를 치사시켜 피부를 박리하고 내경 15 mm의 punch로 주사부위를 깨뚫어 구멍을 내어 조직을 얻은 다음 이것을 세밀하여 0.7%  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  3 ml, Aceton 7 ml의 혼액 중에 실온에서 18시간 담구어 누출색소를 추출하고 원심분리한 상층을 620 nm에서 비색정량하였다.

**Adjuvant 관절염 :** Wistar계 웅성 rat를 사용하여 Freund complete adjuvant 0.1 ml를 실험동물의 오른쪽 뒷다리 발바닥에 피내 주사하고 15일째부터 1일 24시간 제모한 등부위에 시험물질을 적용하여 7일간 반복하였다. 적용 전 및 적용 후 2, 4, 6, 7일째에 쥐의 체중을 측정하고 Plethysmometer(Ugo Basile)를 이용하여 양쪽 뒷다리 발바닥의 부종 정도를 측정하였으며 8일째에는 동물을 회생하여 흉선, 비장, 부신 및 장골임파절의 중량을 측정하였다.

#### 피부자극성시험

New Zealand White계 웅성 토끼 6마리를 이용하여 각 동물의 경배부에 시험물질 적용 24시간 전에 제모를 실시한 후,  $2.5 \times 2.5 \text{ cm}$  정도의 크기로 척추를 중심으로 비찰과 피부 2개소와 22G needle을 사용하여 만든 찰과 피부 2개소의 모두 4개소 피부를 설정하고 이들 중 찰과 피부 1개소와 비찰과 피부 1개소의 2개소는 무처치 대조구획으로 하고 대조물질로서 supporting material인 Vinylacetate-Acrylate Multipolymer(Gelva 737, Monsan-

Table I. Draize-FHSA<sup>a</sup> scoring system

Skin reaction	Score
Erythema and eschar formation	
No erythema	0
Very slight erythema (barely perceptible)	1
Well-defined erythema	2
Moderate to severe erythema	3
Severe erythema (beet redness) to slight eschar formation (injuries in depth)	4
Edema formation	
No edema	0
Very slight edema (barely perceptible)	1
Slight edema (edges of area well defined by definite raising)	2
Moderate edema (raised ~1 mm)	3
Severe edema (raised >1 mm and extending beyond the area of exposure)	4

<sup>a</sup>FHSA; Federal Hazardous Substance Act, U.S.A. (Code of Federal Regulations, 1988).

nto, Lot No. S23707)를 점착하였으며, 나머지 2개소는 처치구획으로 시험물질인 피록시캄 패취를 0.5 g 점착한 후 침투성과 반응성이 없는 테이프(Tegaderm, 3M)로 잘 고정하였다. 또한 시험기간 중 토끼는 토끼용 목칼(일본 나쓰메)로 보정하여 토끼가 테이프를 떼어내지 못하도록 하였다.

일반적 임상관찰로는 외관 및 사료와 음수상태 등을 매일 관찰하였다. 사료를 적용한 점착부위의 관찰은 시험물질 시료 적용 후 24시간, 72시간에 홍반과 부종 등의 약제에 의한 독성 유무를 관찰하였고 홍반 부종의 평가는 국립보건안전연구원 예규에 따라 Table I과 같이 실시하였으며 피부에 대한 자극성의 정도 판정은 일반적으로 많이 이용되는 Draize의 Primary Irritation Index(PII)의 산출방법(Draize, J. H. 등, 1944)을 사용하였다.

#### 통계처리

실험 결과의 분석은 Student's t test를 이용하여 통계처리하였다.

## 실험결과

#### 압통역치

피록시캄 패취가 염증이 유발된 쥐의 다리에서 나타낸 진통작용을 Fig. 1에 표시하였다. Carrageenan 주사에 의해 염증이 유발된 쥐의 발에서 압통역치는 피록시캄 패취제의 투여 용량 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg, 50 mg/kg의 순으로 대조군에 비해 5.34, 7.61, 10.08, 15.76, 32.35( $p<0.01$ ), 31.46%( $p<0.01$ ) 증가하였다.

#### Writhing Test

ICR계 mouse에서 acetic acid로 유발된 writhing 회

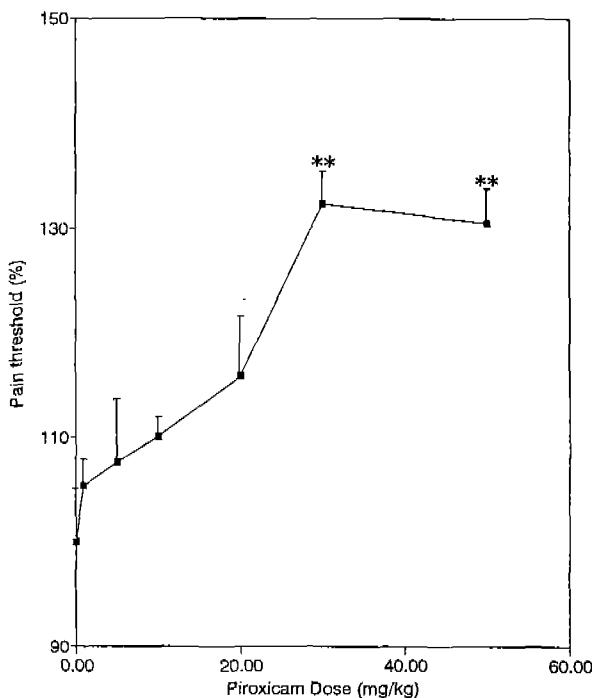


Fig. 1. Analgesic effect of piroxicam patch in rats by Randall and Selitto's method. The patches were applied for 2 hr before and 4 hr after carrageenan (1%, 0.1 ml, i.d.) injection. Each value represents the mean±S.E.M. of data from 7 animals (\*\*: p<0.01 vs control).

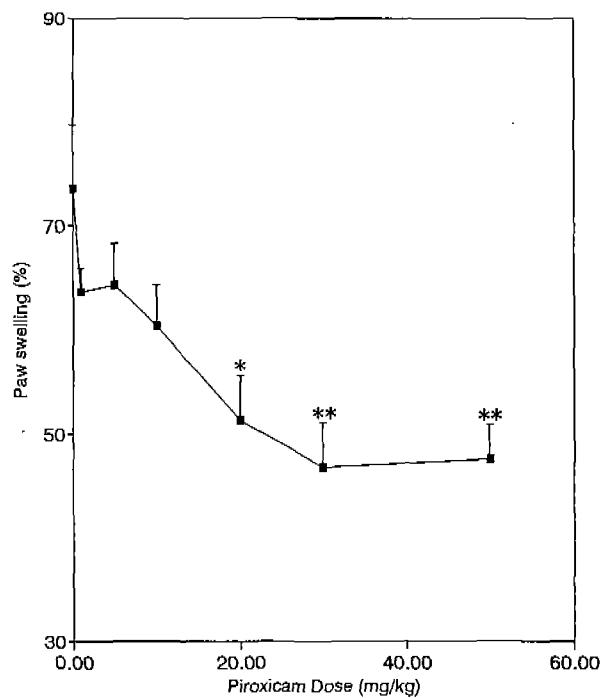


Fig. 3. Effect of piroxicam patch on carrageenan paw edema in rats. The patches were applied for 2 hr before and 4 hr after carrageenan (1%, 0.1 ml, i.d.) injection. Each value represents the mean±S.E.M. of data from 7 animals (\*, \*\*: p<0.05, p<0.01 vs control).

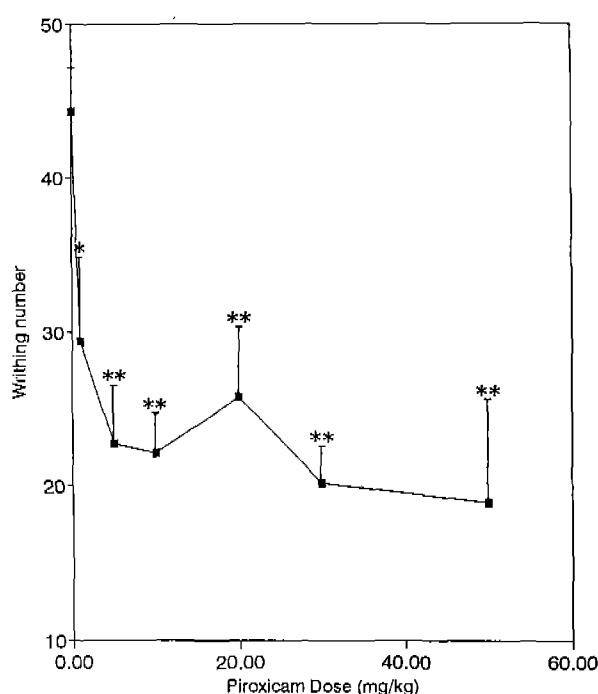


Fig. 2. Effect of piroxicam patch on writhing induced by acetic acid in mice. The patches were applied for 6hr before 0.7% acetic acid (0.1 ml, i.p.) injection. Each value represents the mean±S.E.M. of data from 7 animals (\*, \*\*: p<0.05, p<0.01 vs control).

Table II. Effect of piroxicam patch on the increased vascular permeability induced by histamine in rats

Groups	Applied area (cm <sup>2</sup> )	Leakage of dye (× 10 <sup>-5</sup> g/site)	Inhibition (%)
Control		3.16±0.20	
Piroxicam 1 mg/kg	2×2	2.72±0.13	13.85
5 mg/kg	2×2	2.21±0.27*	29.87
10 mg/kg	2×2	2.20±0.08**	30.64
20 mg/kg	2×2	2.34±0.34	26.01
30 mg/kg	2×2	2.28±0.13**	27.87
50 mg/kg	2×2	2.13±0.25**	32.49

Each value represents the mean±S.E.M. of data from 7 animals. The patches were applied for 6 hr before histamine (10<sup>-5</sup> g/ml, 0.1 ml) i.d. injection (\*, \*\*: p<0.05, p<0.01 vs control).

수는 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 투여 용량이 증가함에 따라 33.55, 48.71, 50.00, 41.94, 54.52, 57.42% 감소하였고 모든 용량에서 통계학적 유의성을 나타내었다.

#### Carrageenan 발바닥 부종 억제작용

Carrageenan으로 유발된 쥐 뒷다리 발바닥 부종에 대한 피록시캄 패취제의 효능검색 결과는 Fig. 3에 표시하였다. 피록시캄 패취제의 용량별 부종억제 정도는 대조군에 비해 13.52, 12.58, 17.97, 30.21, 36.41, 35.36%로 고용량에서 강한 억제 작용을 나타내었고 20 mg/kg, 30 mg/kg, 50 mg/kg 투여군에서 대조군과 비교하여 통계

학적으로 유의성이 있는 부종 억제 작용이 관찰되었다.  
혈관투과성항진 억제작용

피록시캄 패취제의 histamine에 의한 피내 색소누출에 대한 작용은 Table II에 표시된 바와 같다. 피록시캄의 용량 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 30 mg/kg, 50 mg/kg 순으로 혈관투과성항진 억제정도는 13.80, 29.87, 30.63, 26.00, 27.87, 32.50%였고 5 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg 및 50 mg/kg 투여군에서 통계학적 유의성이 관찰되었다.

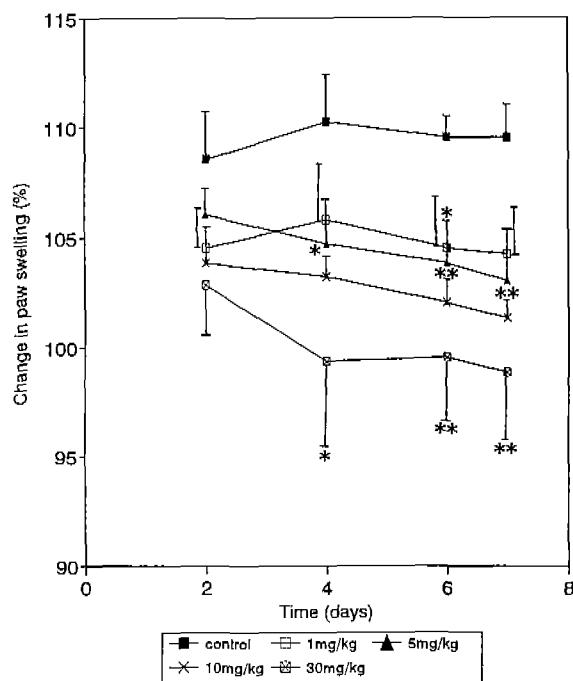
#### Adjuvant 관절염 치료효과

한쪽 뒷다리에 adjuvant를 처치한 쥐의 양쪽 뒷다리 부종에 대한 피록시캄 패취제의 효능검색 결과는 Table III에 나타내었다. Adjuvant를 처치하여 관절염을 유발시킨 쥐의 다리에서 피록시캄 패취 5 mg/kg 처치군에서는 부종억제 효과가 6일째에 나타났으며 10 mg/kg 및 30 mg/kg 처치군에서는 4일째부터 계속 부종억제 효과가 관찰되었다(Fig. 4). 쥐의 체중 및 장기중량에 대한 피록시캄 패취 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg 및 30 mg/kg을 투여한 동물군 전부에서 체중 또는 장기중량 어느 것에서도 통계학적으로 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다.

#### 피부자극성 시험결과

피록시캄 패취제의 점착에 의한 폐사율 및 기타 임상증상을 살펴보면 시험 전기간을 통하여 폐사동물은 관찰되지 않았으며, 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다. 사료 및 음수상태와 체중도 시험물질 적용개시일과 비교하여 유의한 차이를 나타내지 않았다.

피록시캄 패취제를 적용한 후 24시간에 점착부위 피부의 반응을 관찰한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 비침



**Fig. 4.** Effect of piroxicam patch on the treated hind paw edema in adjuvant arthritic rats. The patches were applied for 24 hr daily during 7 days from the 15th to the 21st day after adjuvant treatment. Each value represents the mean  $\pm$  S.E.M. of data from 6 animals (\*, \*\*:  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  vs control).

**Table III.** Effect of piroxicam patch on the hind paw edema in adjuvant arthritic rats

Group	% Change in the right hind paw swelling				% Change in the left hind paw swelling			
	2nd day	4th day	6th day	7th day	2nd day	4th day	6th day	7th day
Control	108.5 ± 2.2	110.2 ± 2.2	109.5 ± 1.0	109.5 ± 1.5	105.5 ± 1.3	106.3 ± 1.8	106.3 ± 1.6	105.8 ± 1.6
Piroxicam 1 mg/kg	104.5 ± 2.0	105.8 ± 3.0	104.5 ± 2.6	104.2 ± 2.6	101.8 ± 2.3	103.7 ± 2.0	102.8 ± 1.2	102.5 ± 1.2
5 mg/kg	106.0 ± 1.3	104.7 ± 2.2	103.8 ± 2.1*	103.0 ± 2.6	104.7 ± 1.9	104.0 ± 1.8	102.5 ± 1.5	101.8 ± 1.3
10 mg/kg	103.8 ± 1.8	103.2 ± 1.2*	102.0 ± 1.7**	101.3 ± 1.4**	103.7 ± 1.7	105.0 ± 3.3	104.3 ± 3.1	103.7 ± 3.0
30 mg/kg	102.8 ± 2.1	99.3 ± 3.5*	99.5 ± 2.5**	98.8 ± 2.8**	102.0 ± 2.0	101.7 ± 2.9	100.3 ± 3.1	98.2 ± 2.20*

Each value represents the mean  $\pm$  S.E.M. of data from 6 animals. The patches were applied for 24hr daily during 7 days from the 15th to the 21st day after adjuvant treatment (\*, \*\*:  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  vs control).

**Table IV.** Effect of piroxicam patch on body weight gain and organ weight in adjuvant arthritic rats

Groups	Body weight gain (g)	Organ weight (mg/100 g B.W.)			
		Thymus	Spleen	Adrenal gland	Iliac lymph nodes
Control	75.8 ± 8.3	103 ± 10	253 ± 29	14.8 ± 0.2	120 ± 8
Piroxicam 1mg/kg	71.7 ± 3.3	105 ± 6	250 ± 19	15.7 ± 0.5	113 ± 4
5 mg/kg	66.7 ± 2.8	123 ± 10	218 ± 10	15.7 ± 0.5	115 ± 4
10 mg/kg	70.8 ± 4.9	100 ± 7	268 ± 13	16.0 ± 0.4*	124 ± 6
30 mg/kg	58.3 ± 5.4	100 ± 3	248 ± 17	15.9 ± 0.6	113 ± 6

Each value represents the mean  $\pm$  S.E.M. of data from 6 animals. The patches were applied for 24hr daily during 7 days from the 15th to the 21st day after adjuvant treatment (\*:  $p < 0.05$  vs control).

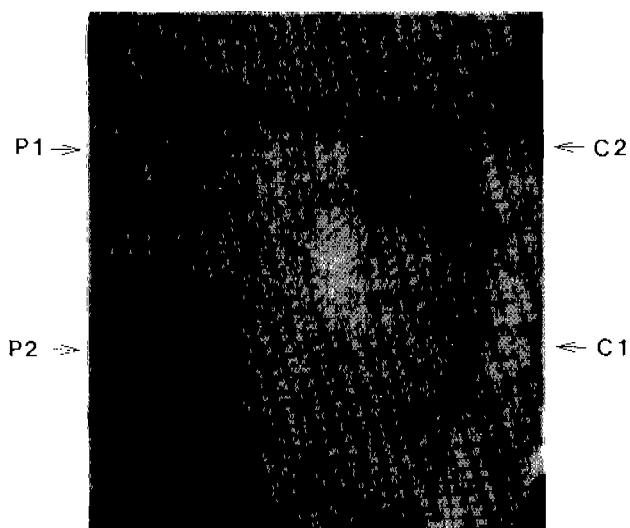


Fig. 5. The skin reaction of piroxicam patch and control sites in a NZW rabbits after 24 hr. P1; piroxicam patch site (intact), P2; piroxicam patch site (abraded), C1; control site (intact), C2; control site (abraded).

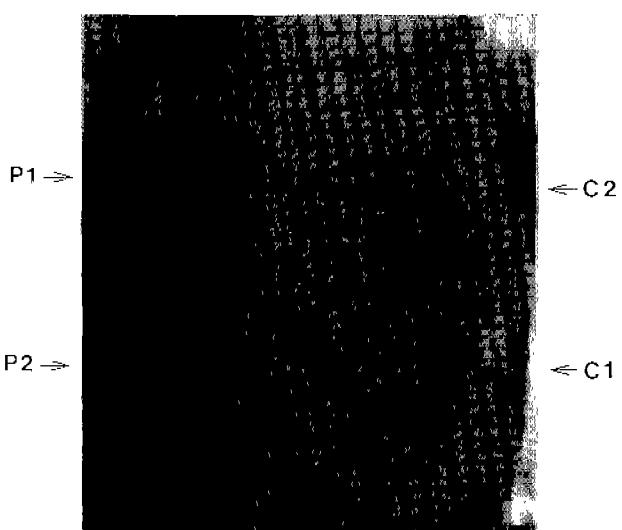


Fig. 6. The skin reaction of piroxicam patch and control sites in a NZW rabbits after 72 hr. P1; piroxicam patch site (intact), P2; piroxicam patch site (abraded), C1; control site (intact), C2; control site (abraded).

과부위에 있어서는 정상건전피부상태를 유지하였고 찰과피부에서는 피록시캄 패취제의 적용부위에 부종이 미약하게 있었으나 홍반은 미미하였고 Acrylate polymer 적용 control부위에도 아주 미약한 부종과 홍반이 존재 하였으나 시료에 의해 생긴 홍반보다는 찰과상처에 의한 홍반이었다. 피록시캄 패취제를 적용한 후 72시간에 관찰한 토기피부의 반응결과를 Fig. 6에 나타내었다. 비찰과피부와 찰과피부 모두 상처가 거의 회복된 양상을 보였다. 각 시료의 피부반응 정도는 Table V에 Draize의

Table V. Results of skin reaction in male NZW rabbits

Sites	Piroxicam patch Test sites				Acrylate polymer Control sites				
	Skin reaction	Erythema & eschar	Edema	Erythema & eschar	Edema	Time (h)	24	72	24
<b>Animal No.</b>									
1	0	1	1	2	0	1	0		
2	1	0	1	0	2	0	1	0	
3	1	0	1	0	2	0	1	0	
4	1	0	0	0	2	0	0	0	
5	1	0	1	0	2	0	0	0	
6	1	0	0	0	2	2	0	0	
Total score	5	1	4	1	12	2	3	0	
Mean score	5/6	1/6	4/6	1/6	12/6	2/6	3/6	0/6	
PII <sup>a</sup>	11/6×1/4=0.46				17/6×1/4=0.71				

<sup>a</sup>PII; Primary Irritation Index, sum of mean scores/4.

PII값으로 나타내었는데 피록시캄 패취제 적용부위에서는 0.46, Acrylate polymer control 부위에서는 0.71로 나타났다.

## 결 론

피록시캄 패취제는 30 mg/kg 이상의 용량으로 적용할 경우 carrageenan으로 염증을 유발시킨 쥐에서 압통역치를 유의성 있게 증가시켰고 mouse에서는 피록시캄 패취제 1 mg/kg과 50 mg/kg 사이의 모든 용량 범위에서 acetic acid 복강주사로 유발된 writhing을 억제시켰다. 이러한 결과는 피록시캄 패취제의 진통효능을 입증할 수 있는 것으로 사료된다. 또한 피록시캄 패취제는 20 mg/kg과 50 mg/kg 사이의 전 용량 범위에서 carrageenan에 의해 유발된 쥐의 발바닥 부종에 뚜렷한 항염증작용을 나타내었고 5 mg/kg과 50 mg/kg 사이의 용량 범위에서는 histamine에 의해 유발된 Evans blue의 혈관투과성 항진에 대한 억제작용을, 5 mg/kg과 30 mg/kg 사이의 용량범위에서는 박성염증 모델인 쥐 adjuvant 관절염에 대한 억제작용을 나타내었다. 이상의 실험결과는 피록시캄 패취제가 급성 및 만성염증에 대한 억제작용을 나타내는 것을 입증하는 것으로 사료된다. 특히 피록시캄 패취제는 adjuvant 처치 쥐에서 체중증가나 장기증량에 유의한 영향을 미치지 않고 항염증작용을 나타내었으므로 본 실험에서 적용한 용량 범위 내에서는 치료효능 이외의 치명적인 문제점을 나타낼 가능성은 없을 것으로 사료된다.

피록시캄 패취제와 Acrylate polymer control의 NZW 토끼에 대한 피부자극시험을 실시한 결과, 시험기간 중

Table VI. PII of Draize

Primary Irritation Index	Evaluation
<2	Mildly irritating
2~5	Moderately irritating
>5	Severely irritating

폐사동물이나 실험동물의 특이한 임상증상은 없었으며, 체중에도 유의한 변화가 없었다. 관찰된 피부반응 중 비찰과부위에 있어서는 피록시캄 패취제 적용부위와 Acrylate polymer control 부위 모두에서 유의한 변화를 나타내지 않았다. 피록시캄 패취제 적용후 24시간에 적용부위에서 score가 1정도인 mild irritancy가 관찰되었는데 이는 모두 찰과부위의 결과로서 72시간 후에는 모두 치유되는 양상을 보였다.

국립보건안전연구원 예규와 Draize법에 의거하여 관찰, 평가한 후 PII값을 산출한 결과로부터 피록시캄 패취제 적용부위에서는 PII값이 0.46, Acrylate polymer 적용부위는 0.71로서 Table VI에 따라 피부자극정도를 분류하였을 때 PII값이 0에 가까운 극히 낮은 값이므로 피록시캄 패취제는 토끼피부에 대한 자극성이 거의 없는

무자극성(practically non-irritating)으로 간주될 수 있다. 이상의 결과는 피록시캄 패취제가 항염증 및 진통작용을 나타내는 외용제로서 비교적 안전하게 사용될 수 있는 가능성을 나타낸 것으로 사료된다.

### 참고문헌

- Code of Federal Regulation. (1988). Office of the Federal Registrar, National Archives of Records Service. *General Services Administration Title. 16*, parts 1500.40-1500.42.
- Draize, J. H., Woodard, G. and Calvery, H. O. (1944). Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membrane. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **82**, 377-390.
- Patrick, E. and Maibach, H.I. (1989). Dermatotoxicology. In *Principles and Methods of Toxicology* (A. W. Hayes, Ed.), pp. 397-398. Raven press, New York.
- Randall, L. O. and Selitto, J. J. (1957). Measurement of analgesic activity of inflamed tissue. *Arch. Int. Pharmacodynam. Ther.* **111**, 409-419.
- Reizo, I., Teruo, K., Hiromitsu, O., Tadayuki, K., Yoichiro, O., Hiroyuki, M., Kazuo, I. and Junji, O. (1985). Basal pharmacological actions of indomethacin-containing poultice. *Therapeutic Research* **3**, 95-101.