

## 마이크로에멀전으로 제제 설계된 피록시캄 외용제의 약물동력학적 특성 및 약효 평가

윤범진 · 박은석 · 지상철\*

성균관대학교 약학부

### Pharmacokinetic and Pharmacological Evaluation of Topical Microemulsion Preparation Containing Piroxicam

Bum-Jin YUN, Eun-Seok PARK and Sang-Cheol CHI\*

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon, Korea

(Received February 18, 1999; accepted March 15, 1999)

**Abstract** – The pharmacological activities and pharmacokinetic aspects of a topical microemulsion (KDPM) containing 0.5% piroxicam were evaluated after its topical application compared with a commercially available 0.5% piroxicam gel (R gel). When the pharmacological activities were evaluated with the carrageenan-induced paw edema model, KDPM showed 55.6% edema inhibition, while R gel resulted in 37.1%. With the adjuvant-induced arthritis model, KDPM also resulted in the better pharmacological activities than R gel. The relative bioavailability of KDPM based on R gel was 176% in rabbits.

**Keywords** □ Piroxicam; Microemulsion; Pharmacokinetics; Pharmacological activities

피록시캄은 강력한 비스테로이드성 소염진통제(NSAID)의 하나이며 반감기가 30~70시간으로(Darragh et al., 1985; Hobbs and Twomey, 1979; Ishizaki et al., 1979) 매우 길어 1일 1회 복용이 가능하며 급만성 관절염 및 관련질환의 치료에 유용하게 사용되어 왔다(Oikkola et al., 1994). 피록시캄은 다른 NSAID와 마찬가지로 프로스타그란딘의 생합성을 억제하는데, 시클로옥시게나제의 효력을 억제하여 아라키돈산이 프로스타그란딘으로 전환되는 단계를 차단하여 소염, 진통 작용을 나타낸다. 이 약물은 경구투여시 강력한 약효에 비례하여 전신적인 부작용과 위장관 자극을 수반하는데 이러한 부작용을 줄이기 위하여 여러 가지 방법이 연구되어 왔으나 이중 외용제로서 경피투여하는 것이 국소적으로 우수한 약효를 유지하면서 부작용을 줄일 수 있는 가장 효과적인 방법으로 평가되고 있다. 즉, 이 약물은 경피투여시 피부를 통하여 서서히 흡수되기 때문에 경구투여 후에 나타나는 높은 혈중농도를 낮출 수 있어 전신적인 부작용을 줄일 수 있을 뿐만 아니라 위장관을 통과하지 않으므로 위장장해도 현저히 줄일 수 있다. 또한 관절염은 체표면에 가까운 곳에서 발생하므로 이 제제를 질환부위 바로 위

의 피부에 국소적으로 적용하면 작용부위에 약물이 직접 들어가서 그 조직의 약물 농도를 높게 해주는 장점도 갖는다.

경동제약(주)에서는 이러한 목적에 맞게 피록시캄을 마이크로에멀전(microemulsion) 제형의 외용제로 제제 설계하는데 성공한 바 있다. 이 피록시캄 마이크로에멀전(KDPM)은 피록시캄을 0.5% 함유하며 내상의 평균 크기가 약 9 nm인 O/W형의 마이크로에멀전으로 설계되어 있어 외관이 투명하고 수려할 뿐만 아니라 수세도 용이하다. KDPM은 마이크로에멀전의 내상으로 올레인산을 사용하였는데 이 올레인산이 피부투과촉진제로도 작용하여 피록시캄의 피부투과도를 높이기때문에 제제 설계된 외용제이다. 즉, 적출한 랫트의 피부를 장착한 프란쯔 확산셀을 사용하여 평가한 피부투과도를 보면 약 40 µg/cm<sup>2</sup>/hr로서 KDPM으로부터 피록시캄의 피부투과도는 기존 경피투여 제제보다 우수한 것으로 나타났다(Yun, 1999). 나아가 마이크로에멀전은 일반 유제와 달리 열역학적으로 안정하여 상분리 등이 일어나지 않는다는 장점이 있는데 KDPM은 6개월간에 걸쳐 가속조건에서의 안정성 시험에서도 우수한 물리화학적 안정성을 나타내었다.

본 실험에서는 KDPM을 경피투여하였을 때의 피록시캄의 약물동력학적 특성과 약효를 현재 시판중인 0.5% 피록

\* To whom correspondence should be addressed.

시캄겔인 신평제약(주)의 R겔(Lot No. RSO711)을 비교제제로 하여 평가하고자 하였다. 약물동력학적 동태는 토끼를 사용하여 평가하였으며 이 제제의 항염증작용은 랫트를 사용한 카라기난 유발 족부종법(Lombardino, 1985)과 adjuvant 유발 관절염법(Pearson, 1956)을 이용하여 평가하였다.

### 실험방법

#### 시약

다음의 시약들은 구입한 후 더 이상 정제하지 않고 사용하였다: 피록시캄, 테녹시캄, 카라기난, 경질유동파라핀(Sigma Chemical Co., U.S.A.), HPLC용 아세토니트릴(Fisher Scientific Co., U.S.A.), *Mycobacterium butyricum* 사균(Difco, U.S.A.).

그외 시약은 모두 특급을 사용하였으며 물은 역삼투압법으로 실험실에서 정제하고 여과하여 사용하였다.

#### 약물동력학적 특성 평가

##### 제제의 경피투여

실험에는 체중 1.9~2.2 kg의 음성 New Zealand white계 토끼(제일상사, 경기도 안성군 소재) 6마리를 1군으로 하여 사용하였다. 실험기간 동안 음식과 물은 제한하지 않았다. KDPM 또는 R겔 3g을 투여 전날 미리 털을 제거한 토끼의 배부위 피부에 6.5 cm×12 cm 넓이로 가볍게 문지르면서 균질하게 도포하였다. 투여직전 및 투여 후 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 그리고 72시간째에 혈액 1.5 ml씩을 귀정맥으로부터 취하여 헤파린 50 units를 함유하는 에펜도프 튜브에 넣었다. 다음 microcentrifuge(비전과학, Model VS-15000)를 사용하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상징액의 혈장 0.5 ml를 에펜도프 튜브에 옮기고 -20℃에서 분석시까지 보관하였다.

##### 혈장중의 피록시캄의 분석

토끼 혈장중의 피록시캄의 분석은 Troconiz 등(1993)이 보고한 HPLC 방법을 일부 변경하여 사용하였다. HPLC 시스템은 펌프(Hitachi, Model L-7110), 수동주입기(Rheodyne, Model 7125), UV/Vis 검출기(Hitachi, Model L-7400), 적분계(Hitachi, Model D-7500)로 이루어졌으며, 분석조건으로 이동상은 아세토니트릴과 8% 초산의 20:80(V/V) 혼합액이며 그 유속은 1.0 ml/min이었다. 분석에 사용된 칼럼은 Cosmosil C<sub>18</sub>(4.6×150 mm, 5 μm particle size, Nacalai Tesque, Japan)이었고 칼럼온도는 상온이었으며 검출 파장은 365 nm이었다.

##### 혈장 시료의 처리

아세토니트릴 1 ml중 테녹시캄 1 μg를 함유하는 내부표준용액 0.2 ml를 혈장 시료 0.2 ml에 가한 다음 1분간 진탕해주고, 10분간 정치시킨 다음 다시 1분간 진탕하였다. 이 액을 15,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 상징액 50 μl를

칼럼에 주사하였다.

#### 약물동력학적 특성과 생체이용률 산출

KDPM 및 R겔을 경피로 투여한 각 6마리 토끼에서 얻어진 피록시캄의 혈중 농도대 시간 곡선을 가지고 필요한 약물동력학적 파라메타인 최고혈중농도(C<sub>max</sub>), 최고혈중농도 도달시간(T<sub>max</sub>)을 평가하였고 혈중농도대 시간 곡선하면적(AUC)은 사다리꼴 공식을 이용하여 구하였다. 또한 R겔에 대한 KDPM의 상대적 생체이용률은 다음의 식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{상대적 생체이용률 (\%)} = \frac{[AUC]_R \times D_R}{[AUC]_K \times D_K} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

단, [AUC]<sub>K</sub>:KDPM의 경피투여시 AUC, [AUC]<sub>R</sub>:R겔의 경피투여시 AUC, D<sub>K</sub>:KDPM의 경피투여시 피록시캄으로 환산한 약물용량, D<sub>R</sub>:R겔의 경피투여시 피록시캄으로 환산한 약물용량이다.

#### 카라기난 유발 족부종법을 이용한 항염증작용 측정

체중 230~270 g의 음성 Sprague-Dawley계 랫트(제일상사)를 사용하여 카라기난 유발 족부종법에 의해 KDPM의 항염증 작용을 평가하였다. 랫트는 시험개시 12시간 전부터 금식시켰으나 물은 자유롭게 마시게 하였다.

랫트의 족부종 부피의 변화는 plethysmometer(Ugo Basile, Type 7150)를 사용하여 측정하였다. KDPM 또는 R겔 50 mg을 카라기난액 주사 5시간 전에 랫트의 발등에 적용 후, 집게손가락으로 50번씩 문질러 발랐으며, 대조군의 경우는 아무런 전처리를 하지 않았다. 1% 카라기난액 0.1 ml를 랫트의 발바닥에 주사한 직후 및 3시간 후의 발의 부피를 측정하였으며 다음의 식을 이용하여 족부종률(% swelling)을 구하였다.

$$\% \text{ Swelling} = \frac{V - V_i}{V_i} \times 100 \quad (\text{식 2})$$

단, V는 카라기난액 주사 3시간 후의 발의 부피이며 V<sub>i</sub>는 주사한 직후의 발의 부피이다.

약물 처리한 랫트의 족부종률을 대조 랫트의 족부종률과 비교하여 다음과 같이 족부종억제율(% inhibition)을 산출하였다.

$$\% \text{ Inhibition} = \left[ 1 - \frac{\% \text{ Swelling of drug-treated group}}{\% \text{ Swelling of control group}} \right] \times 100 \quad (\text{식 3})$$

#### Adjuvant 유발 관절염법을 이용한 항염증작용 측정

체중 210~250 g의 Sprague-Dawley계 음성 랫트를 사용하여 adjuvant 유발 관절염법에 의해 피록시캄 외용제제들의 항염증 작용을 측정하였다. 랫트 10마리를 한 군으로 하여 실험군으로 하였으며, 대조군에는 adjuvant를 주사한 군

(ADA 대조군)에 12마리, adjuvant를 주사하지 않는 군(순수 대조군)에 13마리를 사용하였다. 랫트는 가능한 평균무게가 거의 같도록 선택하고 실험기간 동안 사료와 물은 정상적으로 공급하였다. Adjuvant 용액은 *Mycobacterium butyricum* 사균을 경질유동파라핀에 현탁시켜 6 mg/ml의 농도로 제조하여 사용하였다.

제조된 adjuvant 용액을 실험군과 ADA 대조군 랫트의 오른쪽 뒷 발바닥에 0.1 ml씩 주사하였다. Adjuvant 용액 주사 후 20일째부터 KDPM 또는 R겔을 주사하지 않은 왼쪽 뒷발에 매일 50 mg씩 가볍게 문질러서 발랐으며, 주사 후 20일째부터 주사하지 않은 왼발의 부피변화를 2일 간격으로 34일째까지 측정하였다. 랫트 발의 부피는 plethysmometer를 사용하여 측정하였다. 체중은 첫날부터 34일째까지 2일 간격으로 측정하였다.

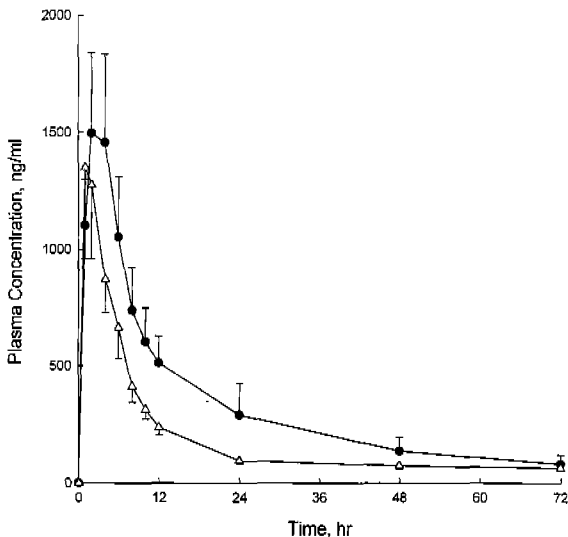
**통계처리**

시험 결과 얻은 파라메타들에 있어서 KDPM의 대조군에 대한 차이는 유의수준 0.10에서 Student의 unpaired t검정을 실시하여 유의성 여부를 확인하였다.

**결과 및 고찰**

**약물동력학적 특성 및 생체이용률 평가**

Fig. 1은 KDPM 또는 R겔을 토끼의 배부위에 경피투여한 후 얻은 평균 혈중농도대 시간을 나타낸 곡선들이며 이로부터 구한 피록시캠의 약물동력학적 파라메타들을 Table 1에 나타내었다. KDPM 경피투여시의 T<sub>max</sub>는 R겔 투여시와 비슷한 2시간대이었다. 그러나, C<sub>max</sub>의 경우에는 KDPM 투여시가 R겔 투여시보다 23.6%가 높았다.



**Fig. 1.** Mean (± standard error) plasma concentration-time profiles of piroxicam after transdermal application of piroxicam preparations on rabbit skin. Key: ●; KDPM, △; R gel.

**Table 1.** Mean (± standard error) Pharmacokinetic Parameters of Piroxicam after Transdermal Application of Piroxicam Preparations on Rabbit Skin

Parameters	KDPM (n=6)	R gel (n=6)
Dose (mg/kg)	7.14±0.53	7.14±0.64
C <sub>max</sub> (ng/ml)	1,602±346	1,296±306
T <sub>max</sub> (hr)	2.17±0.40	2.67±0.42
AUC (ng · hr/ml)	24,133±4,048*	13,708±1,775
Relative BA <sup>a</sup> (%)	176%	-

<sup>a</sup>Relative bioavailability based on R gel. \*Significantly different from R gel.

Hsu 등(1991)이 토끼의 피부 6 cm×10 cm에 0.5% 피록시캠겔 6 g을 적용시켰을 때 C<sub>max</sub>가 640 ng/ml, T<sub>max</sub>가 24시간이었으며 Tsai 등(1985)이 각종 연고기체를 변경하여 토끼의 피부 6 cm×10 cm에 3.3% 피록시캠겔 6 g을 적용하여 투과실험을 했을 때 대부분의 C<sub>max</sub>가 1,000 ng/ml 이하이고 T<sub>max</sub>가 10시간 이상이었음을 고려할 때 KDPM은 기존의 외용제제들 보다 피부투과 속도가 우수함을 알 수 있었다.

KDPM 투여시의 AUC는 R겔 투여시보다 유의성있게 높았으며 두 제제 투여후 얻은 AUC 값으로부터 (식 1)을 이용하여 산출한 R겔에 대한 KDPM의 상대적 생체이용률은 176%로 나타났다. 경피투여되어 피부를 투과된 약물은 피부 중에서 국소적으로 대사를 받지 않는 한 모두 전신혈로 들어온 후 배설(elimination)될 것이므로 약물의 피부투과도가 우수한 제제를 경피투여하면 전신혈 중의 약물농도는 높게 되며 이러한 혈중 약물농도를 이용한 상대적 생체이용률 평가는 약물의 피부투과도를 간접적으로 측정하는 방법이 되므로 본 실험으로부터 KDPM의 높은 피부투과도를 다시 한번 증명한 것이다.

**카라기난 유발 족부종법을 이용한 항염증작용 측정**

카라기난 유발 족부종법은 NSAID의 전임상시험에서 표준화되어 쓰이고 있으며 NSAID 간의 항염증작용을 비교하는데 흔히 사용되므로 본 실험에서도 이 방법을 이용하여 KDPM과 R겔간의 항염증작용을 평가하였다.

제제는 1% 카라기난액을 발바닥에 주사하기 5시간 전에 랫트의 발에 적용하였다. 이는 Larson과 Lombardino(1980)가 피록시캠 경피투여시의 항염증작용을 카라기난 유발 족부종법을 이용하여 측정하였을 때 2.5 mg/kg을 경피투여 후 4시간 경과 후의 족부종억제율은 약 30%를 나타내었으나 8시간 경과 후는 족부종억제율이 약 40%로 최대치를 나타내었음을 보고하여 본 실험에서의 약물적용 8시간 후 족부종의 측정이 타당하였음을 뒷받침하고 있다.

1% 카라기난액 주사한 직후 및 3시간 후 발의 부피를 측정하는 다음, (식 2) 및 (식 3)을 이용하여 계산하였을 때 Table 2에 나타난 바와 같이 KDPM과 시판 R겔의 족부종

**Table 2.** Mean ( $\pm$ standard error) Percent Inhibition of Carageenan-induced Edema by KDPM and R gel

Group	Dose (mg/paw)	No. of rats	% Swelling	% Inhibition
Control	0	8	40.1 $\pm$ 4.8	-
KDPM	50	6	17.8 $\pm$ 2.4*	55.6 $\pm$ 5.9**
R gel	50	6	25.3 $\pm$ 2.4*	37.1 $\pm$ 6.0

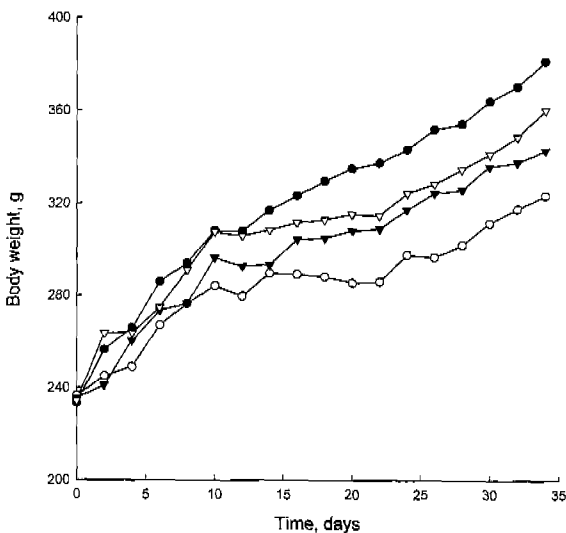
\*Significantly different from control.  
\*\*Significantly different from R gel.

억제율은 각각 55.6%와 37.1%로서 KDPM이 R겔보다 유의성 있게 우수한 족부종억제율을 나타내었다. 카라기난 유발 족부종 시험에서 최대 족부종 억제율이 약 60%로 보고되어 있어(Lombardino, 1985) KDPM의 족부종 억제율은 이 모델에서의 최대치에 근접하는 매우 우수한 것임을 알 수 있었다.

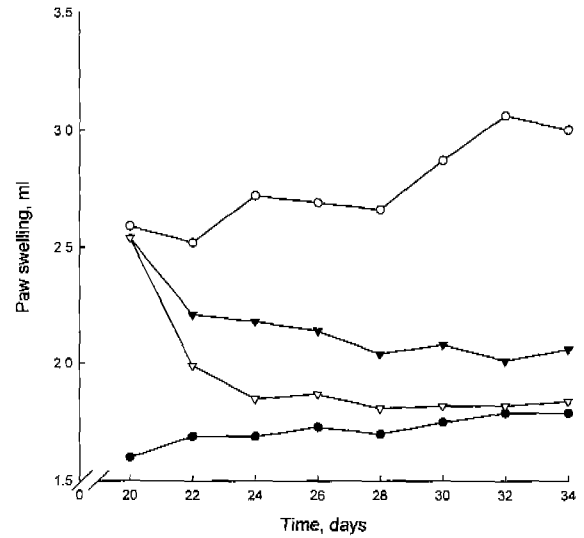
**Adjuvant 유발 관절염법을 이용한 항염증작용 측정**

Adjuvant 유발 관절염법은 인체에서 발생하는 류마치스 성 관절염과 가장 유사하게 유발된 일종의 만성관절염으로 NSAID의 장기적인 항염증작용을 평가하는 모델로 가장 광범위하게 사용되고 있다.

Adjuvant를 랫트의 발바닥에 주사하면 통상 그 발은 급격히 부어오르게 되며 3일째부터 10일째까지 비교적 일정한 부피를 유지하는데 이를 acute phase라 하며, 이후부터 다시 부피가 늘어나는데 이를 chronic phase라 한다. 본 실험에서는 치료효력을 측정하였으므로 chronic phase에서 제제를 적용시키고 adjuvant를 주사하지 않은 발의 부피를 측정하였는데 이는 전신적인 효과만을 측정하기 위한 것으



**Fig. 2.** Adjuvant arthritis (curative). Development of body weight of rats. Key: ●; Control, ▽; KDPM, ▼; R gel, ○; ADA control.



**Fig. 3.** Adjuvant arthritis (curative). Absolute volume of untreated hind paws of rats. Key: ○; ADA control, ▼; R gel, ●; Control, ▽; KDPM.

로써 adjuvant를 주사한 후 20일째부터 피록시캄 외용제들을 적용하였다.

Fig. 2는 랫트의 체중변화를 나타내고 있으며 Fig. 3은 랫트의 발 부피의 변화를 보여주고 있다. 이들 그림에 나타나 있는 바와 같이 체중 증가율은 KDPM이 R겔보다 높았으며 adjuvant로 유발된 관절염 치료효과도 KDPM이 우수하였으며 특히 KDPM으로 치료한 군의 발 부피가 대조군에 가까울 정도로 KDPM의 항염증작용이 우수함을 알 수 있었다. 시험 마지막 날인 34일째에 측정된 체중변화율, 발의 부피 및 족부종억제율은 Table 3과 같다. 실험기간 중 랫트들의 체중증가는 순수대조군은 63.4%가 증가하였으며, ADA 대조군은 49.4%, KDPM은 53.8%, R겔은 45.6%가 증가하였다. 실험 마지막 날에 ADA 대조군을 기준으로 한 족부종 억제율은 R겔이 31.3%이고, KDPM이 38.7%로서 유의성 있는 차이를 나타내어 KDPM이 R겔보다 우수한 족부종억제율을 나타내었다.

이 결과는 KDPM의 오일상으로 강력한 피부투과 촉진제의 하나인 올레인산을 사용하므로써 마이크로에멀전으로

**Table 3.** Comparison of Mean ( $\pm$ standard error) Therapeutic Effect on Adjuvant-induced Arthritis between KDPM and R gel<sup>a</sup>

Group	No. of rats	Body weight (g)	Paw volume (ml)	% Inhibition
Control	13	381.1 $\pm$ 9.3	1.79 $\pm$ 0.06	-
ADA control	12	323.2 $\pm$ 11.4	3.00 $\pm$ 0.09	-
KDPM	10	360.0 $\pm$ 10.4	1.84 $\pm$ 0.14*	38.7 $\pm$ 3.5**
R gel	10	342.7 $\pm$ 14.4	2.06 $\pm$ 0.23*	31.3 $\pm$ 3.9

<sup>a</sup>Observed on the 34th day. \*Significantly different from ADA control. \*\*Significantly different from R gel.

제제 설계한 것이 피록시캄의 피부투과도를 향상시켜 높은 혈중농도를 나타냄과 아울러 국소적으로 우수한 약효를 나타낸 것으로 사료된다.

## 결 론

경동제약(주)에서 자가 제조한 마이크로에멀전 제형의 0.5% 피록시캄을 함유하는 KDPM을 시판되고 있는 신평제약(주)의 R겔을 비교제제로 하여 경피투여 후의 약물동력학적 특성 및 항염증작용을 평가한 결과 R겔의 투여시에 비하여 KDPM의 경피투여시  $T_{max}$ 는 차이가 없었으나  $C_{max}$ 는 R겔보다 23.6% 높았다. R겔에 대한 KDPM의 상대적 생체이용률은 176%으로 나타났다. 또한 카라기난 유발 족부종법에서 KDPM 및 R겔의 족부종억제율이 각각 55.6%, 37.1%로 나타났으며 adjuvant 유발 관절염법에서도 족부종억제율이 각각 38.7%, 31.3%로 나타나 두가지 항염증작용 평가방법 모두에서 KDPM이 R겔보다 우수하였다.

## 참고문헌

- Darragh, A., Gordon, A. J., O'Bryne, H., Hobbs, D. and Casey, E. (1985). Single-dose and steady-state pharmacokinetics of piroxicam in elderly vs young adults, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 305-309.
- Hobbs, D. C. and Twomey, T. M. (1979). Piroxicam pharmacokinetics in man: aspirin and antacid interaction studies, *J. Clin. Pharmacol.*, **19**, 270-281.
- Hsu, L. R., Tsai, Y. H. and Huang, Y. B. (1991). The effect of pretreatment by penetration enhancers on the in vivo percutaneous absorption of piroxicam from its gel form in rabbits, *Int. J. Pharm.*, **71**, 193-200.
- Ishizaki, T., Nomura, T. and Abe, T. (1979). Pharmacokinetics of piroxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory agent, under fasting and postprandial states in man, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **7**, 369-381.
- Larson, D. L. and Lombardino, J. G. (1980). The topical anti-inflammatory effects of piroxicam in rodents, *Agents Actions*, **10**, 246-251.
- Lombardino, J. G. (1985). Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs, John Willey & Sons, New York, **98**, 116-129.
- Oikkola, K. T., Brunetto, A. V. and Mattila, M. J. (1994). Pharmacokinetics of oxicam, nonsteroidal anti-inflammatory agents, *Clin. Pharmacokin.*, **26**, 107-120.
- Pearson, C. M. (1956). Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvants, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **91**, 95-101.
- Troconiz, J. I. F., Lopez-Bustamante, L. G. and Fos, D. (1993). High-performance liquid chromatographic analysis of piroxicam and tenoxicam in plasma, blood and buffer solution, *Arzneim.-Forsch.*, **43**, 679-681.
- Tsai, Y. H., Hsu, L. R. and Naito, S. I. (1985). Percutaneous absorption of piroxicam from ointment bases in rabbits, *Int. J. Pharm.*, **24**, 61-78.
- Yun, B.-J. (1999). Formulation and Biopharmaceutical Evaluation of Topical Microemulsion Preparation Containing Piroxicam, *Ph.D. Dissertation, Chapter 2*, Sungkyunkwan University.