

흰쥐를 이용한 플루르비프로펜 겔의 약물동력학적 특성평가

길형준 · 이우영 · 지상철*

성균관대학교 약학대학

(Received May 16, 1994)

Pharmacokinetic Evaluation of Flurbiprofen Gel Using Rats

Hyung-Jun Gil, Woo-Young Lee and Sang-Cheol Chi*

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon, Kyunggi-Do 440-746, Korea

Abstract—The pharmacokinetic characteristics of an 1% flurbiprofen gel were evaluated using rats in reference to IV bolus and oral administration of the drug using rats. Following the transdermal application of the gel at the dose of 2 mg/kg as flurbiprofen, the C_{max} and T_{max} of the drug were 2.14 $\mu\text{g/ml}$ and 2 hr, respectively, whereas those after the oral administration of the drug as a suspension were 9.90 $\mu\text{g/ml}$ and 0.25 hr, respectively. These results indicate that, by the transdermal administration of flurbiprofen as the gel, the absorption of the drug was much slowed down and the lower C_{max} compared to the oral administration may reduce the systemic side effects of the drug. The relative bioavailability of the flurbiprofen gel in reference to the oral dose was 48.5%. Tissue levels of flurbiprofen following the application of 50 mg of the 1% flurbiprofen gel onto ventral skin of rats showed that the maximum drug concentrations in the skin (8.52 $\mu\text{g/g}$) and the muscle (2.06 $\mu\text{g/g}$) occurred at 2 hrs postdose. The drug concentration in the both tissues remained relatively constant over the next 6 hrs following the peak concentration.

Keywords □ Flurbiprofen, Gel, Pharmacokinetics, Bioavailability.

플루르비프로펜은 프로스타글란딘의 생합성을 억제하므로써¹⁾ 소염, 진통 효과를 나타내는 비스테로이드성 소염진통제로 류마치스성 질환에서 통증과 염증 치료에 효과를 나타내며 급성 근육관절계 질환에도 사용되어 왔다.²⁾ 본 연구자들은 이 약물의 경구 투여에 따른 전신적 부작용과 위장관 자극을 감소시키기 위해, 플루르비프로펜을 폴록사머 407을 사용하여 외용 겔을 제조하였으며 제제설계 인자들이 약물의 겔로부터의 방출 및 피부 투과에 미치는 영향을 이소프로필 미리스테이트와 흰쥐의 절취 피부를 사용하여 평가한 플루르비프로펜의 방출속도 및 피부 투과속도는 폴록사머 407과 약물농도에 좌우되며, 겔의 pH에도 영향을 받는다고 보고하였다.^{3,4)} 이 결과로부터 가장 높은 피부투과도를 나타낸 17.5% 폴록

사머 407과 20% 에탄올을 함유하며 겔의 pH를 4로 조정한 1% 플루르비프로펜 겔을 설계하였다.

이 1% 플루르비프로펜 겔의 항염증작용을 흰쥐를 사용하여 카라기난 유발족부종법으로 측정하였을 때 이 모델의 최대 부종억제치인 60%의 부종억제율을 나타내었으며 이와 같이 높은 항염증작용이 24시간 동안 지속되었다. 경피로 투여된 플루르비프로펜은 일단 피부를 투과하여 투여부위하 국소조직을 통과한 후 마지막으로 전신혈로 들어와 배설이 되므로 본 연구에서는 흰쥐를 사용하여 1% 플루르비프로펜 겔을 경피투여한 후 약물이 피부를 투과하여 투여부위하 국소조직 즉, 피부와 근육에 얼마나 많이 축적되는가를 알아보고, 혈중농도를 측정하여 피부를 투과한 약물의 양을 간접적으로 알아보고자 하였다. 또한 플루르비프로펜 겔의 약물동력학적 특성과 생체 이용률을 산출하고자 하였다.

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

실험방법

시약 및 용매—모든 시약들은 공급자로부터 받은 것을 더 이상 정제하지 않고 사용하였다. 플루르비프로펜, 인산이수소칼륨, 인산일수소나트륨, 구연산 (Sigma Chemical Co., U.S.A.), 플록사머 407(BASF Wyandotte Corp., Germany), 에탄올(James Burrough Ltd., U.K.), 에텔, HPLC용 아세토니트릴(J.T. Baker Inc., U.S.A.), 시클로헥산, 트라가칸타(Fisher Scientific Co., U.S.A.), 염산(Junsei Chemical Co., Japan). 옥사프로진과 헤파린은 각각 일동제약(주)와 (주) 중의제약에서 공급받아 사용하였다.

실험동물—실험에는 체중 300~350 g Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷을 사용하였으며 실험기간동안 음식과 물은 제한하지 않았다. 실험하기 전날 약한 에텔 마취하에 흰쥐에 경정맥에 실라스틱 튜브(Dow Corning, U.S.A.)를 사용하여 캐눌레이션하였다.

플루르비프로펜의 투여—1% 플루르비프로펜 겔을 경피투여할 때의 약물동력학적 특성 및 생체이용률을 산출하기 위하여 대조군으로 플루르비프로펜을 정맥투여, 경구투여하고 플루르비프로펜 겔을 복부에 경피투여하였다. 투여량은 3가지 투여경로 모두 플루르비프로펜으로 약 2 mg/kg의 용량으로 하였다.

정맥투여시 플루르비프로펜을 0.01 M 인산염 완충액(pH 7.4)에 녹이고 이를 캐눌레이션된 경정맥에 1분간에 걸쳐 주입하였다. 정맥주사 직전 및 0.083, 0.333, 0.667, 1, 1.5, 2, 3, 5, 8, 12, 24, 36시간째 250 μ l의 혈액을 채취하였다. 경구투여시는 플루르비프로펜을 트라가칸타 0.5%를 함유하는 생리식염수에 현탁시키고 경구준데로 투여하였다. 투여직전 및 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.33, 1.67, 2, 3, 5, 8, 12, 24, 36시간째에 혈액 250 μ l씩을 채취하였다.

겔의 경피투여 방법으로는 1% 플루르비프로펜 겔 50 mg을 미리 털을 제거한 등부의 피부에 2 cm×3 cm 넓이로 가볍게 문지르면서 균질하게 도포하였다. 투여직전 및 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 36시간째에 혈액 250 μ l씩을 채취하였다.

채취한 혈액은 헤파린 5 Unit를 함유하는 에펜도르프 튜브에 넣어 소형원심분리기(한일과학, Model HM-15-3)를 사용하여 2,000 rpm에서 5분간 원심분리하고 상정액의 혈장 100 μ l를 유리관으로 옮기고 -20°C에서 분석시까지 보관하였다.

약물동력학적 특성과 생체이용률 산출—정맥투여, 경구투여, 경피투여 등 3가지의 다른 경로로 투여된 각 4마리 흰쥐에서 얻어진 플루르비프로펜의 혈장중 약물농도-시간 곡선을 가지고 필요한 약물동력학적 파라메타들을 구하였다. 혈장중약물농도-시간 곡선하 면적(AUC)은 $[AUC]_{0-36}^{36}$ 과 $[AUC]_{0-36}^{36}$ 으로 구분하여 $[AUC]_{0-36}^{36}$ 은 polynomial 법을 이용하여 구하고 $[AUC]_{0-36}^{36}$ 은 투여 36시간째의 혈장중 약물농도를 terminal phase의 배설속도로 나누어 구한 후 두 값을 합하여 산출하였다. 1% 플루르비프로펜 겔의 절대 또는 상대 생체이용률을 플루르비프로펜의 정맥주사 또는 경구투여시와 비교하여 다음 식을 이용하여 산출하였다. 1% 플루르비프로펜 겔의 절대 또는 상대 생체이용

$$\text{률(\%)} = \frac{[AUC]_T \times D_R}{[AUC]_R \times D_T} \times 100$$

여기서 $[AUC]_R$ 을 플루르비프로펜의 정맥투여 또는 경구투여시 AUC, $[AUC]_T$ 는 1% 플루르비프로펜 겔의 경피투여시 AUC, D_R 은 정맥 또는 경구투여시 약물용량, D_T 는 1% 플루르비프로펜 겔의 경피투여시 플루르비프로펜으로 환산한 약물용량이다.

투여부위하 국소조직으로의 약물 이행—국소에 도포한 플루르비프로펜 겔로부터 투여부위가 피부와 근육조직으로 약물이 얼마나 이행되는가를 측정하기 위하여 1% 플루르비프로펜 겔을 복부 피부에 투여하고 일정시간 후에 투여한 부분의 피부와 근육에 이행된 약물농도를 측정하였다. 실험에는 흰쥐 5~6 마리를 1군으로 하여 각 시간대에 할당하였다. 실험하기 하루전에 흰쥐 복부의 털을 제모기(Thrive, Model 900)를 사용하여 제거하였다. 그후 흰쥐를 에텔로 가볍게 마취한 상태에서 1% 플루르비프로펜 겔 50 mg을 약 2 cm×3 cm 면적에 부드럽게 문질러서 도포하였다. 투여후 1, 2, 4, 8시간째에 각 군의 흰쥐를 죽인 후 적용부위에 남아 있는 겔을 50% 에탄올 용액으로 적신 솜으로 닦아 내고 피부와 근육을 떼어 내었다. 근육은 50% 에탄올 용액 1 ml로 조직 연마기(Tekmar, Model SDT 1810)로 균질화하였다.

에탄올 용액으로 10 ml 용량을 맞추고 냉장고에서 하루 방치한 후 2,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후 상정액중의 약물을 HPLC방법으로 함량을 분석하였다. 피부는 가위로 얇게 자른 후 50% 에탄올 용액으로 용량을 10 ml로 하였다. 이 용액을 왕복진탕기에서 24시간 흔들어서 추출하고 2,000 rpm으로 5분간 원

심분리한 후, 상정액중의 약물을 HPLC방법으로 함량분석하였다.

혈장 및 조직중의 플루르비프로펜 분석—혈장, 피부 및 근육조직 중의 플루르비프로펜 양은 Chi 등의 고속액체크로마토그래피(HPLC)법을 일부 수정하여 정량하였다. HPLC 시스템은 등속 펌프(Hitachi, Model L-6000), 수동주입기(Rheodyne, Model 7125), UV/Vis 검출기(Hitachi, Model L-4000), 적분계(Hitachi, Model D-2500)로 이루어졌으며 분석조건으로 이동상은 0.02 M 인산염 완충액(pH 7.0)과 아세토니트릴의 74 : 26(V/V)혼합액이며 그 유속은 1.2 ml/min이었다. 실험에 사용된 칼럼은 Cosmosil 5C₁₈ AR(5 μm particle size, 4 mm×150 mm, Nacalai Tesque, Japan)이었으며 칼럼온도는 실온이었다. 검출파장은 254 nm이었고 감도는 0.02 AUFS이었다. 검량선은 기지의 플루르비프로펜 양을 함유하는 혈장 또는 피부나 근육 추출액을 분석하여 내부표준물질과의 피크 높이비를 측정하여 작성하였다.

채취한 흰쥐의 혈장 또는 피부나 근육조직의 추출액 100 μl에 옥사프로진을 10% 아세토니트릴에 녹여 10 μg/ml의 농도로 제조한 내부표준물질 표준용액 10 μl과 0.1 M 염산 0.1 ml를 가한 후 10초 동안 흔들어서었다. 여기에 5 ml의 시클로헥산을 가하고 왕복진탕기(제일과학, Model C-SGM)에 넣고 15분 동안 흔들후 원심분리기(비전과학, Model VS-5000)로 2,000 rpm에서 5분동안 원심분리시켰다. 유기용매층을 일회용 피펫으로 취하여 깨끗한 유리관으로 옮기고 질소기류하 30°C에서 증발시킨 후 HPLC이동상 0.2 ml로 reconstitution시키고 15초간 혼합기(Thermolyne, Model MaxMix II)로 혼합한 후, 이 최종 시료 용액중 50 μl를 칼럼에 주입하였다.

결과 및 고찰

플루르비프로펜의 HPLC 분석—혈장 또는 피부나 근육 추출액중의 플루르비프로펜의 함량은 동일한 방법으로 분석하였으며 blank 흰쥐 혈장과 플루르비프로펜 겔을 경피투여하고 채취하여 얻은 혈장을 상기의 방법에 따라 추출, 분석한 대표적인 크로마토그램들을 Fig. 1에 나타내었다. 플루르비프로펜과 내부표준물질인 옥사프로진의 retention time은 각각 7.0분, 10.5분이었으며 플루르비프로펜 겔을 경피투

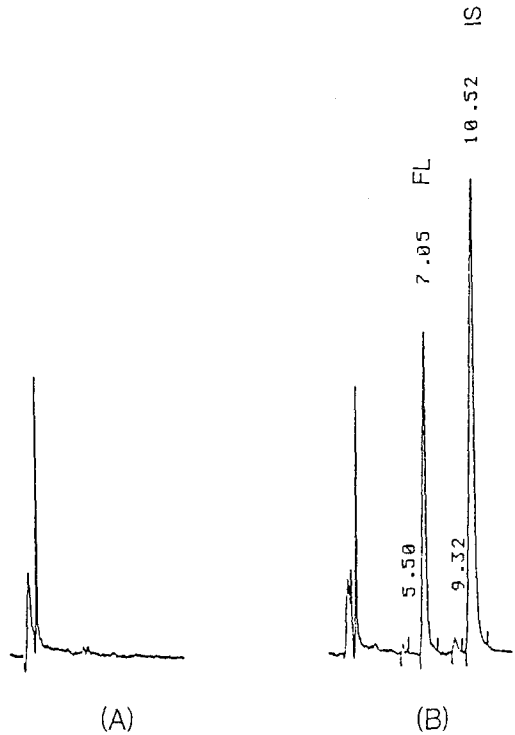


Fig. 1—Representative chromatograms of extract of (A) blank rat plasma and (B) rat plasma spiked with flurbiprofen and the internal standard (oxaprozin).

Key: FL; Flurbiprofen, IS; Internal standard.

여한 후 얻은 크로마토그램(B)에서 알 수 있듯이 5.5분대와 9.3분대에 약물의 대사산물 또는 혈장중의 불순물로 추정되는 작은 피크가 검출되었으나 약물이나 내부표준물질의 피크와는 겹치지 않았다. 이 분석방법의 정량한계는 10 ng/ml이었으며 피크들은 모두 분리도가 좋고 대칭적이어서 정량에 신뢰성을 줄 수 있었다.

플루르비프로펜 투여 후 혈장농도대 시간곡선—Fig. 2은 투여경로별로 4마리의 흰쥐에 플루르비프로펜을 정맥주사, 경구, 경피투여하여 얻은 평균 혈장중 약물농도-시간을 나타낸 곡선들이며 이로부터 구한 각 투여경로별 플루르비프로펜의 약물동력학적 파라메타들을 Table I에 나타내었다. 플루르비프로펜을 정맥 주사한 후 각 흰쥐에서의 혈장중약물농도-시간 곡선으로부터 약물의 재흡수가 일어났음을 알 수 있었다. 경구투여시 플루르비프로펜은 신속히 흡수되어 투여후 15분만에 9.90 μg/ml의 최고혈중농도를 나타

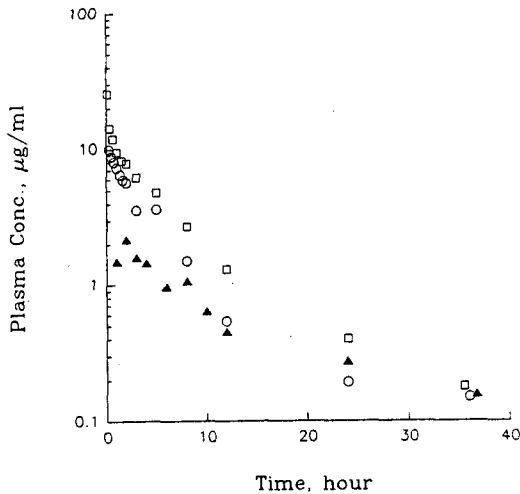


Fig. 2—Plasma concentration-time profiles of flurbiprofen following IV, oral and transdermal administration of the drug using rats. Key: □, IV, ○, oral, ▲, transdermal.

내었다. 1% 플루르비프로펜 겔을 경피투여하였을 때 플루르비프로펜의 흡수는 많이 늦어져 최고혈중농도 도달시간이 2시간에 이르렀으며 그때의 혈중농도는 $2.14 \mu\text{g}/\text{ml}$ 으로써 경구 투여시의 1/5정도이었다. 비스테로이드성 소염진통제를 경구투여하였을 때 초기에 나타나는 높은 혈중농도는 약물의 부작용과 밀접한 관계가 있으므로, 겔의 경피투여로 인해 최고혈중농도가 낮아진 것은 경구투여에 의한 전신적인 부작용과 위장관 장애를 줄일 수 있는 장점으로 기대된다. 혈장농도-시간 곡선에서 보면 겔의 경피투여 후 약물의 농도가 진폭은 있으나 투여후 1시간에서 8시간까지 비교적 일정한 값을 유지하고 있었으며 그때의 혈장중 약물농도는 $0.96 \sim 2.14 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다.

생체이용률—세 경로로 투여된 후 산출된 플루르비프로펜의 AUC는 Table I에 나타낸 바와 같이 정맥투여시 $2.50 \text{ mg}/\text{kg}$ 용량에서 $71.4 \mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ 이었고 경구투여시 $1.60 \text{ mg}/\text{kg}$ 용량에서 $43.7 \mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ 이었다. 약물로서 $1.60 \text{ mg}/\text{kg}$ 의 투여량에서 1% 플루르비프로펜 겔의 경피투여시 AUC는 $20.5 \mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ 이었다. 이로부터 산출한 1% 플루르비프로펜 겔의 경피투여시 절대 생체이용률은 47.9%이었으며, 경구투여에 대한 상대 생체이용률은 48.5%로, 이것은 플루르비프로펜을 본 연구의 외용 겔로 적용할 경우 적어도 이만큼이 피부를 통해 흡수된다는 것을 나타낸다. 인

Table I—Pharmacokinetic parameters of flurbiprofen after its IV bolus, oral and transdermal administration in rats^a

Parameters	Administration route		
	IV Bolus	Oral ^b	Transdermal ^c
Dose ^d (mg/kg)	2.50	1.60	1.60
C_{\max} (mg/ml)	—	9.90 ± 1.38	2.14 ± 2.33
T_{\max} (hour)	—	0.25	2.0
AUC($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	71.37 ± 11.65	43.66 ± 8.27	20.48 ± 12.50
Absolute BA(%)	—	98.8	47.9
Relative BA ^e (%)	—	—	48.5

^a mean \pm S.D.(n=4)

^b flubiprofen suspended in physiological saline solution

^c 1% flurbiprofen gel

^d average dose of administration

^e relative bioavailability in reference to oral administration

도메타신,^{6,7)} 나프록센,⁸⁾ 디클로페낙⁹⁾ 등과 같은 비스테로이드성 소염진통제를 피부적용제로 제제설계하였을 때 생체이용률이 1~20%로 보고되어 있음을 감안하면 본 연구의 1% 플루르비프로펜 겔의 생체이용률은 상당히 높아졌음을 알 수 있다. 국소 적용 제제에서 약물의 생체이용률은 다음과 같은 2가지 단계에 의해 좌우된다. 즉, 기제로부터 약물의 방출과 피부를 통과하는 약물의 투과이다. 이중 제제로부터 약물의 피부투과는 약물 자체의 피부투과성과 약물을 함유하는 기제의 특성에 의해 좌우되며 특히 기제는 약물이 제제로부터 방출되는 과정은 물론 약물이 피부를 투과하는 과정에까지 영향을 미친다. 본 연구에 사용된 폴록사머 407겔은 리도카인의 외용제제에 사용시 탁월한 약물 방출특성을 나타내었다.¹⁰⁾ 또한 폴록사머 407은 일종의 계면활성제이므로 플루르비프로펜의 피부투과에 대해 피부 투과촉진제로도 작용한 것으로 사료된다. 이러한 겔기제로서의 폴록사머 407의 특징으로 인해 새로운 피부 겔 처방의 플루르비프로펜은 높은 생체이용률을 나타낸 것으로 보인다.

투여부위하 국소조직으로의 약물이행—Fig. 3에는 플루르비프로펜 겔의 국소적용 후 1, 2, 4, 8시간 지난 다음 얻은 국소조직의 플루르비프로펜 농도-시간 곡선을 나타내었다. 피부중 최고약물농도는 $8.52 \mu\text{g}/\text{g}$ 으로 투여후 2시간째에 나타났으며 그 후 6시간 동안 계속적으로 지속되었다. 근육에서도 2시간째에 $2.06 \mu\text{g}/\text{g}$ 의 최고약물농도를 나타내었으며 특히 근육에서의 약물농도-시간 곡선은 혈장의 것과 거의 일

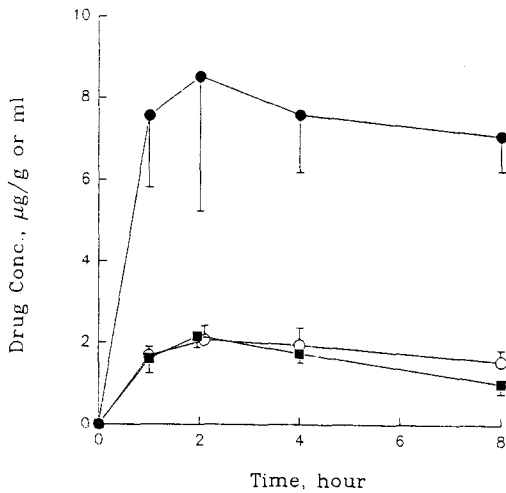


Fig. 3—Drug concentration profiles in skin and muscle under the applied site and plasma as a function of time after the trasdermal application of 1% flurbiprofen gel on the ventral skin of rats. Key: ●; skin, ○; muscle, ■; plasma.

치하였다. 최고 약물농도를 나타낸 2시간 이후에는 이들 국소조직과 혈중농도 사이에 평형상태가 유지되고 있음을 알 수 있다. 또한 이들 곡선에서 알 수 있듯이 겔로부터 피부를 통하여 약물이 8시간 이상 지속적으로 흡수되었는데 이는 플루르비프로펜의 투여대상이 되는 질환이 발생하는 부위인 근육조직에서 적은 용량의 약물로써 높은 약물 농도를 얻을 수 있다는 것으로 본 연구에 사용된 플록사머 407 겔로부터 플루르비프로펜의 경피 흡수가 그만큼 좋다는 것을 의미한다.

감사의 말씀

이 연구는 한국과학재단의 특정기초 연구과제(# 91-0500-07) 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1) Brogden, R. N., Hell, R. C., Speight, T. M. and

Avery, G. S.: Flurbiprofen: A review of its pharmacological properties and therapeutic use in rheumatic diseases, *Drugs*, **18**, 417 (1979).

2) Perianin, A., Roch-Arveiller, M., Giroud, J. and Hakim, J.: *In vivo* effects of indomethacin and flurbiprofen on the locomotion of neutrophils elicited by immune and non-immune inflammation in the rat, *Eur. J. Pharmacol.*, **106**, 327 (1985).

3) Gil, H. -J., Kim, H. and Chi, S. -C.: Release of flurbiprofen from Pluronic gel. submitted for publication in *Archives of Pharmacal Research* (1994).

4) Gil, H. -J.: Preparation and biopharmaceutical evaluation of flurbiprofen transdermal gel. *Sung Kyun Kwan University Ph. D. Dissertation*, (1993).

5) Chi, S. -C., Kim, H. and Lee, S. -C.: High performance liquid chromatographic analysis of flurbiprofen in rat plasma. *Anal. Lett.*, **27**, 377 (1994).

6) Ogiso, T., Ito, Y., Iwaki, M. and Atago, H.: Absorption of indomethacin and its calcium salt through rat skin: Effect of penetration enhancers and relationship between *in vivo* and *in vitro* penetration, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **9**, 517 (1986).

7) Nowack, H., Marin, U., Reger, R., Bohme, H., Schriever, K. H., Bocionek, P., Elbers, R. and Kampffmeyer, H. G.: Cutaneous absorption of indomethacin from two topical preparations in volunteers, *Pharm. Res.*, **2**, 202 (1985).

8) van den Ouweland, F. A., Eenhoorn, P. C., Tan, Y. and Gribnau, F. W. J.: Transcutaneous absorption of naproxen gel, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **36**, 209 (1989).

9) Riess, V. -W., Schmid, K., Botta, L., Kobayashi, K., Moppert, J., Schneider, W., Sioufi, A., Strusberg, A. and Tomasi, M.: Die perkutane resorption von diclofenac, *Arzneim.-Forsch.*, **36**, 1092 (1986).

10) Chen-Chow, P. -C. and Frank, S. G.: *In vitro* release of lidocaine from Pluronic F-127 gels, *Int. J. Pharm.*, **8**, 89 (1981).