

## 카리기난 유발 족부종법에 이용한 플루르비프로펜 겔의 항염증작용 평가

길형준 · 이장원 · 지상철\*

성균관대학교 약학대학

(Received May 16, 1994)

### Antiinflammatory Activity of Flubiprofen Gel on Carrageenan-induced Edema

Hyung-Jun Gil, Jang-Won Lee and Sang-Cheol Chi\*

College of Pharmacy, Sung Kyun University, Suwon, Kyunggi-Do 440-736, Korea

**Abstract**—Antiinflammatory activity of an 1% flurbiprofen transdermal gel was evaluated using the carrageenan-induced rat paw edema method. The application of 50 mg of the gel on the rat hind paw, at various time intervals from 0 to 24 hrs before the carrageenan injection, significantly inhibited edema formation in all groups of dosed rats, indicating that the antiinflammatory activity was maintained up to 24 hrs after the transdermal application of the 1% flurbiprofen gel. The topical ED<sub>50</sub> of flurbiprofen in the gel was 1.0 mg/kg, whereas the oral ED<sub>50</sub> of the drug in a suspension was 1.7 mg/kg.

**Keywords** □ Flurbiprofen, Gel, Antiinflammatory activity, Carrageenan

프로피온산계 비스테로이드성 소염진통제(NSAID)의 하나인 플루르비프로펜은 급만성 관절염 및 그 관련질환 치료에 유용하게 사용되어 왔다.<sup>1-5)</sup> 그러나 플루르비프로펜은 경구투여시 강력한 소염 진통작용과 함께 전신적인 부작용과 위장관 자극작용을 수반하는데 이 약물이 통상 장기간에 걸쳐 사용하는 것을 감안하면 이러한 부작용을 줄이는 일은 바람직한 것이다. 플루르비프로펜을 경구투여하면 이 약물은 위장관에서 전신혈로 흡수되고 receptor site인 염증부위에 도달하여 치료효과를 나타낸다. 그러나 대상 질환부위가 보통 체표면에 가까우므로 약물을 질환부위 근처의 체표면에 국소적으로 적용하면 작용부위에 약물이 직접 들어가서 그 조직의 약물 농도를 높게 해주는 장점을 갖는다. 또한, 이렇게 투여하면 약물의 위장관에 대한 직접자극작용이 없어지므로 위장장해도 현저히 감소시킬 수 있다.

본 연구자들은 폴록사머 407을 사용하여 플루르비프로펜 겔을 제제설계화하고 이들 겔로부터 약물의

방출 및 피부투과에 있어 제제설계 인자에 의한 영향을 검토하였다.<sup>6)</sup> 본 연구에서는 이를 근거로 하여 가장 높은 피부투과도를 나타낸 처방으로 조제된 1% 플루르비프로펜 겔의 항염증작용을 카리기난 유발 족부종시험법<sup>7)</sup>을 사용하여 평가하였다.

#### 실험방법

**시약**—모든 시약들은 공급자로부터 받아 더 이상 정제하지 않고 사용하였다: 플루르비프로펜, 카리기난, 트라가칸타, 인산일수소나트륨, 구연산 (Sigma Chemical Co., U.S.A.), 폴록사머 407(BASF Wyandotte Corp., Germany), 에탄올(James Burrough Ltd., U.K.), 생리식염수(중외제약).

**플루르비프로펜 겔 처방 및 조제**—이 연구에 사용한 1% 플루르비프로펜 겔은 17.5%의 폴록사머 407과 20%의 에탄올을 함유하며 겔의 pH를 0.1 M의 구연산과 0.2 M의 인산일수소나트륨의 혼합액을 사용하여 pH 4로 조절한 처방이다. 이 처방은 이소프로필 미

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

리스테이트를 receptor phase로 사용한 약물방출 실험과 흰쥐 피부를 사용한 약물의 피부투과 실험에서 여러가지 처방중 플루르비프로펜이 약물방출 및 피부투과가 최대치를 나타낸 것으로서 이미 보고된 실험방법<sup>6)</sup>에 따라 조제하였다.

**플루르비프로펜의 항염증 작용 측정**—체중 230~270 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷을 사용하여 카라기난 부종시험법에 의해 플루르비프로펜 겔의 항염증 작용을 측정하였다. 가능한 한 각 군은 평균 무게가 거의 같도록 흰쥐를 선택했고 실험 개시 12 시간 전부터 금식시켰으나 물은 자유롭게 마시게 하였다.

플루르비프로펜 겔을 흰쥐의 발에 집게 손가락으로 50번 정도 문질러 투여하였으며 대조군의 경우는 약물을 넣지 않은 겔 기제만을 동일한 방법으로 적용하였다. 1% 카라기난 생리식염수 0.1 ml를 발바닥에 피하주사하고 주사 직후 및 3시간 후의 발의 부피를 plethysmometer(Ugo Basile, Type 7150)를 사용하여 측정하였으며 다음 식을 이용하여 족부종율(% swelling)을 구하였다.

$$\% \text{ Swelling} = \frac{V - V_i}{V_i} \times 100 \quad (\text{식 } 1)$$

여기서 V는 카라기난 주사 3시간 후의 발의 부피이며  $V_i$ 는 최초 발의 부피이다. 약물처리한 흰쥐의 평균 족부종율을 대조 흰쥐의 족부종율과 비교하여 다음과 같이 부종억제율(% inhibition)을 산출하였다.

$$\% \text{ Swelling} = \left[ 1 - \frac{\% \text{ Swelling of drug-treated group}}{\% \text{ Swelling of control group}} \right] \times 100 \quad (\text{식 } 2)$$

플루르비프로펜의 경구투여시는 0.5% 트라가칸타를 함유하는 생리식염수에 적절한 양의 플루르비프로펜을 현탁시킨 액 1 ml를 경구 존대를 사용하여 카라기난 주사 1시간 전에 투여하고 상기와 동일한 방법으로 실험하였다. 대조군은 0.5% 트라가칸타 1 ml만을 투여하였다.

**국소부위내 플루르비프로펜의 투여량 대 항염증작용 관계**—1% 카라기난용액에 플루르비프로펜의 적절한 양을 용해시킨 후 이 용액 0.1 ml를 흰쥐의 발바닥에 피하주사하였다. 주사한 플루르비프로펜의 양은 0.5, 1, 2, 4 mg/kg이었으며 각 흰쥐의 족부종율과 부종억제율은 앞서와 같이 구하였다.

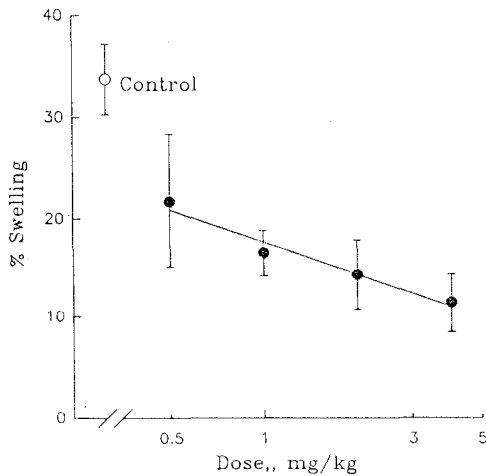
**플루르비프로펜 겔의 항염증작용의 지속시간**—1군 6마리씩인 흰쥐에 플루르비프로펜 겔 50 mg을 1% 카라기난 0.1 ml를 주사하기 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36시간 이전에 왼쪽 발에 도포시켰다. 그리고 카라기난을 주사하고 3시간 뒤에 상기의 투여 시간마다 각 흰쥐 발의 부피를 측정하여 족부종율과 부종억제율을 계산하였다. 대조군으로는 8마리의 흰쥐를 사용하였으며 카라기난용액을 주사하기 3시간전 겔 기제를 도포하였다. 각 투여시간에 있어 족부종율이 대조군의 족부종율과 유의성있는 차이가 있는지를 알아보기 위해 Student의 t-test를 이용하여 통계처리하였다.

**플루르비프로펜 겔의 ED<sub>50</sub>**—1% 플루르비프로펜 겔의 항염증작용을 평가하기 위해 겔의 투여량을 약물로서 0.5, 1, 2, 4 mg/kg으로 변경하면서 1% 카라기난용액 0.1 ml를 흰쥐의 발바닥에 피하주사하기 3시간 전에 흰쥐의 발에 도포시켰다. 플루르비프로펜 투여량의 로그값과 대한 부종억제율의 상관관계로부터 50% 부종을 억제하는 투여량으로 정의되는 ED<sub>50</sub>을 산출하였다. 경피와 경구로 투여하는 플루르비프로펜의 효율성을 비교하기 위해 경구 ED<sub>50</sub>도 측정하였는 바 플루르비프로펜의 적정량을 0.5% 트라가칸타를 함유하는 생리식염수에 현탁시키고 카라기난을 주사하기 1시간전 이액 1 ml를 경구 존대를 사용하여 플루르비프로펜으로서 0.5, 1, 2, 4 mg/kg의 투여량을 흰쥐에 투여하였다. 대조군으로 0.5% 트라가칸타 1 ml를 8마리의 흰쥐에 투여하였다. 플루르비프로펜의 경구투여시와 1% 플루르비프로펜 겔의 경피투여시의 ED<sub>50</sub>을 사용하여 1% 플루르비프로펜 겔의 경구투여시에 대한 약효대비 상대적 생체이용률(relative equiponderal availability)을 다음과 같이 산출하였다.

$$\text{Relative equiponderal availability} = \frac{\text{topical ED}_{50}}{\text{oral ED}_{50}} \times 100 \quad (\text{식 } 3)$$

## 결과 및 고찰

**국소부위내 플루르비프로펜의 투여량 대 항염증작용 관계**—플루르비프로펜을 함유하는 카라기난용액을 발바닥에 피하주사하고 3시간 후 측정된 흰쥐의 족부종율을 플루르비프로펜 약물량의 로그값에 대해



**Fig. 1**—Dose response flurbiprofen after its subplantar injections on carrageenan-induced edema model.

플로트하여 Fig. 1에 나타내었다.

플루르비프로펜 약물량 0.5~4 mg/kg에서 약물량의 로그값과 족부종율과는 직선 관계가 있었는데 4 mg/kg의 약물량으로 66%의 부종억제율을 나타내었다.

일반적으로 족부종법을 이용한 NSAID의 부종억제율은 약 60%로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 발바닥에 피하주사한 플루르비프로펜 약물량의 로그값과 부종억제율과의 직선관계를 다음과 같이 나타낼 수 있었다.

$$\log(\text{dose}) = -2.77 + 0.05 \times (\% \text{ Inhibition})$$

이 연구에서 관찰한 항염증작용과 플루르비프로펜 약물량의 로그값과의 상관계수는 0.999 이상이었다. 따라서, 플루르비프로펜에 대한 이 연구에 있어 생물학적 분석방법이 타당함을 또한 입증할 수 있었다.

**플루르비프로펜 겔의 항염증작용의 지속시간**—카라기난용액을 흰쥐의 발바닥에 주사한 후의 염증 유발은 부종이 형성되고 약 10시간 동안 지속된 것으로 알려져 있다. 생쥐를 사용한 메페남산과 인도메타신 국소제제의 항염증작용의 지속시간을 측정함에 있어 Schrier 등<sup>8)</sup>은 카라기난 주사 1시간 전에 마우스의 발에 제제를 도포시켰다. 그리고, 그들은 약물에 의한 부종 억제율을 결정하기 위해 10시간까지 시간별로 발부피의 변화를 관찰하였다. 그러나 이 방법은 카라기난 주사후 부종반응이 오래 지속되지 않기 때문에 10시간 이상 동안 약물의 항염증작용을 평가하는 데

**Table I**—Duration of antiinflammatory activity of 1% flurbiprofen gel at the dose of 50 mg/rat

Time <sup>a</sup> (hr)	No. of rats	% Swelling (mean ± S.E.)	% Inhibition
Control	8	72.7 ± 8.2	—
0	6	49.9 ± 6.9*	31.4
3	6	40.9 ± 10.7*	43.7
6	6	38.9 ± 8.5*	46.5
9	6	35.8 ± 4.5*	50.8
12	6	32.5 ± 4.5*	55.3
18	6	34.5 ± 5.4*	52.5
24	6	37.6 ± 2.3*	48.3
36	6	57.5 ± 13.1	20.9

<sup>a</sup>application time before the injection of 0.1 ml of 1% carrageenan solution

\*significantly different from control group at  $\alpha=0.05$

는 적당하지 않았다. 본 연구에서는 플루르비프로펜 겔을 카라기난을 주사하기 전에 발에 적용함으로써 이제제의 항염증작용의 지속시간을 정확히 측정할 수 있었다.

Table I은 카라기난을 주사하기 전 0시간에서 36 시간 사이의 시간에 1% 플루르비프로펜 겔을 국소적으로 도포시킨 후 플루르비프로펜에 의한 부종억제율을 보여주고 있다. 카라기난을 주사하기 전 0시간에서 24시간 사이의 시간에 플루르비프로펜 겔을 흰쥐 발위에 투여하였을 경우에 카라기난을 주사하고 3시간 후에 뚜렷한 부종억제율을 나타내었다. 카라기난을 주사하기 전 2시간에서 24시간 사이의 시간에 겔을 흰쥐 발위에 투여하였을 경우에 거의 최대치의 부종억제를 나타내었다. 그러나 36시간 사이에서는 대조군에 비해 유의성있는 차이가 관찰되지 않았다. 이러한 결과로 1% 플루르비프로펜 겔은 카라기난 주사 24시간 전에 투여할 경우라도 강력한 부종억제를 나타낼 수 있는 충분한 국소적 농도를 나타냄을 알 수 있다. 이러한 지속적인 항염증작용은 플루르비프로펜이 폴록사머 겔로부터 피부로 서서히 방출되는데 기인하는 것으로 사료된다. 폴록사머는 “reverse thermal behavior”라는 독특한 특성을 가지고 있어 경피투여 후 피부위에 얇은 막을 형성하는 것으로 알려져 있는데,<sup>9)</sup> 겔을 국소에 적용할 때 이 막이 약물의 서방성 필름역할을 하는 것으로 사료된다. 이러한 폴록사머 407의 물성은 다른 서방성 국소적용제에도 사용되었는데, 인도메타신의 직장투여,<sup>10)</sup> 필

**Table II**—ED<sub>50</sub> of flurbiprofen after the transdermal application of 1% flurbiprofen gel and oral administration of flurbiprofen suspended in saline

Admin. route	Dose <sup>a</sup>	No. of rats	% Swelling (mean± S.E.)	% Inhibition	ED <sub>50</sub>
Transdermal	0	8	50.7± 2.1	—	1.01
	0.5	6	32.6± 4.1	35.8	
	1	6	24.8± 1.4	51.2	
	2	6	21.3± 2.2	58.0	
	4	6	17.1± 1.8	66.3	
Oral	0	8	53.9± 8.9	—	1.62
	0.5	6	34.9± 5.6	35.3	
	1	6	28.7± 6.9	46.8	
	2	6	26.3± 8.2	51.2	
	4	6	21.1± 5.5	60.9	

<sup>a</sup>mg/kg of flurbiprofen

로카르핀의 눈점막투여,<sup>11)</sup> 지속성 점안제<sup>12)</sup>가 그 예들이다.

**플루르비프로펜 겔의 ED<sub>50</sub>**—Table II는 카라기난 용액을 주사한 3시간 후 흰쥐의 족부종율과 0.5~4 mg/kg의 투여량으로 1% 플루르비프로펜 겔을 경피투여한 후의 부종억제율과 또한 플루르비프로펜으로 동일한 용량을 0.5% 트라가칸타를 함유하는 생리식염수에 현탁시켜 경구 투여한 후의 부종억제율을 나타내고 있다. 회귀방정식에 의한 분석결과 플루르비프로펜의 경피투여량과 부종억제율 사이의 관계는 다음 식으로 나타낼 수 있었다.

$$\log(\text{dose}) = -1.821 + 0.04 \times (\% \text{ Inhibition})$$

이때 상관계수는 0.997이었다. 경피투여 후의 항염증 작용과 투여량의 로그값과의 관계에서 직선성은 피록시캄,<sup>13)</sup> 메클로페남산,<sup>8)</sup> 인도메타신 연고<sup>8)</sup> 등에서도 보고된 바 있다. 산출된 1% 플루르비프로펜 겔의 경피투여량의 ED<sub>50</sub>은 1.01 mg/kg의 플루르비프로펜에 해당한다.

동일한 방법으로 산출한 플루르비프로펜의 경구투여량에 대한 회귀방정식은 다음과 같았다.

$$\log(\text{dose}) = -1.62 + 0.04 \times (\% \text{ Inhibition})$$

이때 상관계수는 0.995이었으며 산출된 경구투여량의 ED<sub>50</sub>은 플루르비프로펜 1.67 mg/kg이었다.

경구투여시와 경피투여시의 ED<sub>50</sub>를 식 (3)에 적용하여 1% 플루르비프로펜 겔의 경구투여시에 대한 약효대비 생체이용률을 산출한 결과 160% 이었다.

한편 경구투여시에 대한 1% 플루르비프로펜 겔의 용량대비 생체이용률은 혈중농도-시간곡선하 면적을 이용하여 산출한 결과 48.5%로 보고되어 있다.<sup>14)</sup> 그러나 두개의 다른 투여 경로를 비교하였을 때 용량 대비 상대적 생체이용률은 약물의 혈중농도가 국소적 염증 부위에서 조직농도와 동등할 경우에만 항염증 효능의 지표로서 가치가 있다. 그러나 본 논문에서와 같이 외용제제를 흰쥐의 발에 도포할 경우 약물은 피부의 염증 조직을 통해 순환 혈관에 들어가므로 혈액보다 조직내에서 약물의 농도가 높게 유지된다고 생각된다. 그러므로 약효대비 생체이용률은 국소적으로 적용되는 소염진통제의 효능을 평가하는데 보다 좋은 지표가 될 것이다.

### 감사의 말씀

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

### 문 헌

- 1) Marsh, C. C. and Schuna, A. A.: Review of selected investigational nonsteroidal antiinflammatory drugs of the 1980s. *Pharmacotherapy*, 6, 10 (1986).
- 2) Flower, F. P., Araujo, O. E. and Tan, P.: A comparative study of the effect of flurbiprofen and indomethacin on sunburn. *Curr. Ther. Res.*, 36, 787

- (1984).
- 3) Broden, R. N., Heel, 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 (1986).
  - 4) Marcolongo, R., Giordano, N., Fioravanti, A., Benvenuti, C. and Longoni, A.: Flurbiprofen in rheumatoid arthritis: a long-term experience. *Curr. Ther. Res.*, **33**, 423 (1983).
  - 5) Tan, P., Flowers, F. P., Araujo, O. E. and Doering, P.: Effect of topically applied flurbiprofen on ultraviolet induced erythema. *Drug Intel. Clin. Pharm.*, **20**, 496 (1986).
  - 6) Gil, H. -J.: Preparation and biopharmaceutical evaluation of flurbiprofen transdermal gel. Sung Kyun Kwan University *Ph.D. Dissertation*, (1993).
  - 7) Lombardino, J. G.: Nonsteroidal antiinflammatory drugs, John Willey & Sons, New York, 116 (1985).
  - 8) Shrier, D. J., Monito, S., Gluckman, M. I. and Gilbertsen, R. B.: The topical anti-inflammatory effects of a topical preparation of meclofenamic acid on carrageenan-induced footpad swelling in mice. *J. Pharm. Pharmacol.*, **39**, 57 (1987).
  - 9) BASF Co., Organic Specialties & Fine Chemical Dept., *Technical Data on Pluronic Polyols*, Publication No. OS796, Parsippany, NY, U.S.A.
  - 10) Miyazaki, S., Yokouchi, C., Nakamura, T., Hashiguchi, N., Hou, W.-M. and Takada, M.: Pluronic F-127 gels as a novel vehicle for rectal administration of indomethacin, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1801 (1986).
  - 11) Miller, S. C. and Donovan, M. D.: Effect of Poloxamer 407 gel on the mitotic activity of pilocarpine nitrate in rabbits, *Int. J. Pharm.*, **12**, 147 (1982).
  - 12) Krezanoski, J. Z.: Ethylene oxide-propylene oxide block copolymer ophthalmic carrier material, *Ger. Offen.*, **2**, 708,152 (1977).
  - 13) Larson, D. L. and Lombardino, J. G.: The topical anti-inflammatory effects of piroxicam in rodents. *Agents and Actions*, **10**, 246 (1980).
  - 14) Gil, H. -J., Lee, J. -W. and Chi, S. -C.: Pharmacokinetic evaluation of flurbiprofen gel using rats. submitted for publication in *Yakhak Hoeji* (1994).