

클로닉신과 시클로덱스트린과의 포접복합체 형성

박선주 · 김길수*

이화여자대학교 약학대학
(1995년 10월 3일 접수)

Inclusion Complexation of Clonixin with Cyclodextrins

Sun Joo Park and Kil Soo Kim*

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea
(Received October 3, 1995)

The aim of this study is to increase the solubility and dissolution rate of clonixin by inclusion complex formation. Inclusion complexes of clonixin, a non-steroidal antiinflammatory drug, with β -cyclodextrin were 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin were prepared by freeze drying method. Inclusion complex formation of clonixin with cyclodextrins was determined by UV, IR and DSC. The apparent stability constants were calculated from the phase solubility diagrams. Dissolution rate and solubility of clonixin in water markedly increased by the complex formation.

Keywords—Clonixin, Inclusion complexation, Cyclodextrin, Solubility

생체에 경구투여된 난용성 약물의 위장관 흡수에 있어서 약물의 용출속도가 유효단계인 경우, 제제로부터의 약물의 용출속도는 생체이용률이 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 따라서 난용성 약물의 용출속도 및 용해도 향상은 약물의 제제설계에 있어서 주요 연구 과제로 되고 있다. 용해도 증가는 계면활성제의 이용, 결정형의 변화, solid solution형성이나 분산기법에 의한 입자도 감소 및 복합체화 등의 방법으로 할 수 있으며 그 중 복합체화에 의해 형성되는 포접 화합물은 host분자가 가지고 있는 空洞내에 guest분자를 넣어 만든 복합체이다. 단분자 포접 화합물은 단일 host분자와 단일 guest분자의 포접 화합물을 의미하며 단일 host분자로서 수용성이며 광범위한 포접능을 가지고 있는 시클로덱스트린(CD)이 많이 이용되고 있다.^{1,2)}

포접 화합물은 약제학적인 면에서 액상약물의 분체화,^{3,4)} 약효발현의 조절,⁵⁾ 의약품의 안정화,⁶⁻⁸⁾ 용해성의 개선 및 이에 따른 생체이용률의 증대,⁹⁻¹⁴⁾ 국소자극성 경감,¹⁵⁾ 휘발성의 감소¹⁶⁾ 등에 이용될 수 있다.

소염진통제는 빠른 약효를 필요로 하기 때문에 위장관에서의 흡수가 중요하다. 염의 형태로 투여시에는 해리형이 되어 위장관에서의 흡수가 저하되므로 비해리형

분률이 높게 되도록 설계할 필요가 있다. 또, 기존의 소염 진통제들은 복용 후 결정입자가 장시간 위벽에 잔류하여 자극에 의한 심한 위장관 부작용을 초래하는 수가 많다. 비스테로이드성 항염증약물과 CD간의 포접복합체를 제조하여 문제점을 해소하려 하였다.^{17,18)} Blanco 등이 나프록센에 대하여,¹⁹⁾ Puglisi 등은 4-비페닐초산²⁰⁾에 대하여 보고하였고, 그 외에 티아프로펜산,²¹⁾ 펜티아직,²²⁾ 이부프로펜,²³⁾ 플루르비프로펜,^{13,24)} 피록시캄²⁴⁾ 등에 대해서도 β -CD 혹은 β -CD 유도체를 이용하여 포접화합물을 제조하고 이들의 용해도를 증진시켜 약물흡수를 촉진하였다.

이에 저자 등은 클로닉신을 산성에서 비해리 상태로 용해도를 증가시켜 위에서의 약물흡수를 증진시키고자 β -CD 및 2-히드록시프로필- β -시클로덱스트린(2-HP- β -CD)과의 포접복합체를 제조하여 평형용해도 및 용출특성을 검토하였다.

실험방법

시약

β -CD (Aldrich Chemical Co.), 2-HP- β -CD (Al-

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

drich Chemical Co.), 클로닉신(국제약품제공), 무수 에탄올 (Hayman Limited), 기타 시약류는 시판특급품을 사용하였으며, 물은 Ultrapure 18M Ω -cm water (Millipore, MILLI-Q Reagent Water Systems)를 사용하였다.

기기

동결건조기 (Labconco), UV/Visible 분광광도계 (Beckman DU-68), 적외부 분광광도계 (Perkin Elmer 1420), 시차주사열량계 (Perkin Elmer Co., DSC 7), 회전식 감압농축기 (Büchi, RE121), 감압건조기 (Fisher Scientific Co. model 282A), 자석식 가열교반기 (Fisher Scientific Co. model 210T), 진탕수욕장치 (Chang Shin Co.), laboratory press (Carver), 전기건조기 (BLEU M) 및 용출시험기 등을 사용하였다.

고체 복합체의 제조

Scheme I과 같이 Kurozumi 등¹⁸⁾의 방법에 따라 동결건조법으로 β -CD 및 2-HP- β -CD와 클로닉신과의 포접복합체를 제조하였다. 제조한 product들은 모두 60 mesh (250 μ m)체를 통과시켰다. 클로닉신과 β -CD, 2-HP- β -CD를 1:1의 몰 비로 취한 후, 유발에서 혼합하여 물리적 혼합물을 조제하였다.

클로닉신의 정량

클로닉신 2 mg을 칭량하여 100 ml 에탄올에 용해하여 4, 8, 12, 16, 20 μ g/ml의 농도로 하고 291 nm에서 흡광도를 측정하여 최소자승법으로 검량선 $y = 0.02024 + 0.0737x$ 를 얻었다. 고체복합체 중의 클로닉신은 앞에서 구한 검량선에 의해 정량하였다.²⁵⁾

적외부 흡수 스펙트라(IR) 측정

IR 흡수 스펙트럼은 대한약전의 브롬화칼륨 정제법에 따라 클로닉신과 β -CD, 2-HP- β -CD의 혼합물 및 포접복합체에 대해 측정하였다.

시차 주사열량(DSC) 측정

클로닉신과 β -CD, 2-HP- β -CD의 혼합물 및 포접복합체에 대하여 DSC를 행하였다. 약물 약 2mg에 해당하는 시료를 알루미늄 팬을 사용하여 10°C/min의 속도로 50~250°C의 온도 범위에서 측정하였다.^{19,20)}

평형 용해도의 측정

일정 과량의 클로닉신을 유리 마개가 달린 삼각 플라스크에 넣고 정제수, pH 5, 7, 9 완충액을 각각 10 ml씩 가하여 유리 마개를 한 후, 30.0 \pm 0.5°C 항온의 진탕수조내에서 100 rpm으로 1주일간 진탕하고 24시간 정치시켰다. 평형이 된 후, 막여과기(0.45 μ m, Millipore)로 여과한 용액을 희석하여 UV 흡광도법으로 측정하여 평형 용해도를 구하였다.

클로닉신과 β -CD, 2-HP- β -CD의 혼합물 및 포접복합체에 대해서도 같은 방법으로 하여 물에서의 평형 용해도를 구하였다.

용해도상도의 작성

Higuchi와 Lach 등¹⁷⁾에 의한 용해도법에 따라 클로닉신 일정 과량을 바이알에 넣고, 여러 농도의 β -CD, 2-HP- β -CD(2~20 \times 10⁻³M)을 첨가하여 밀폐한 후, 용해 평형에 도달할 때까지 30 \pm 0.5°C에서 일주일 동안 100 rpm으로 진탕하였다. 72시간 정치시킨 후, 이 용액을 막여과기(0.45 μ m, Millipore)로 여과하고 적절히 희석하여 흡수 극대 파장에서 UV 흡광도를 측정하여 용해도상도를 작성하였다.

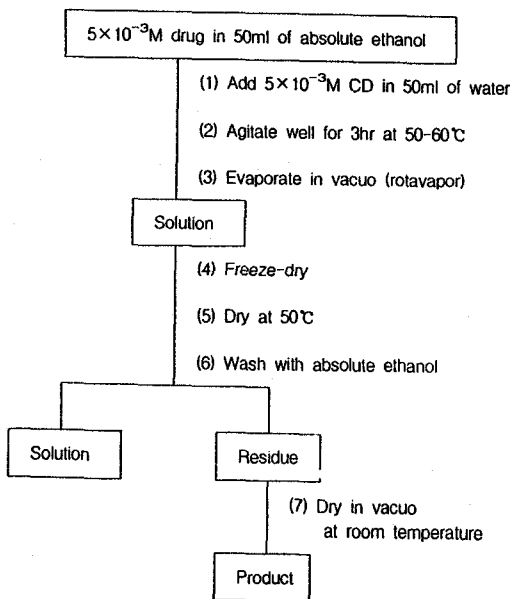
안정도 정수의 산출

Higuchi 등¹⁸⁾의 방법에 따라 용해도상도로부터 다음 식에 따라 겉보기 안정도 정수 K를 산출하였다.

$$K = \frac{(S_t - S_0)}{[S_t - (S_t - S_0)][L_t - (S_t - S_0)]}$$

$$= \frac{\text{slope}}{\text{intercept} (1 - \text{slope})}$$

여기에서 S_t는 용해된 약물의 총농도, L_t는 시클로덱



Scheme I—Preparation of Inclusion Complex by Freeze Drying Method.

스트린의 첨가 농도, S_0 는 약물 단독의 용해도이다. 기울기 및 절편은 용해도상도의 초기 직선에서 기울기와 Y절편의 값으로부터 계산하였다.

용출시험

대한약전 용출시험법 제2법(paddle법)에 준하여 시험하였다. 클로닉신 20 mg에 해당하는 양의 포접화합물과 물리적 혼합물, 약물과 유당과의 혼합물을 IR용 disk 제조기를 사용하여 10 ton의 압력으로 1분간 압축한 것을 사용하였으며 인산염완충액(pH 7.2)과 염화칼륨-염산완충액(pH 1.2 USP XXII)을 시험액으로 사용하였다. $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 50 rpm으로 교반하면서 1, 5, 15, 25, 35, 45, 60, 90, 120분마다 시료를 채취하여 채취된 용출액과 동량의 시험액을 보충하고, 흡수 극대파장(291 nm)에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

고체 복합체의 확인

Fig. 1은 클로닉신- β -CD 복합체의 적외흡수스펙트럼이다. 클로닉신의 1640 cm^{-1} 의 C=O 피크는 1700 cm^{-1} 로 이동되며, 1375 cm^{-1} 의 $-\text{CH}_3$ 피크, 또 1230

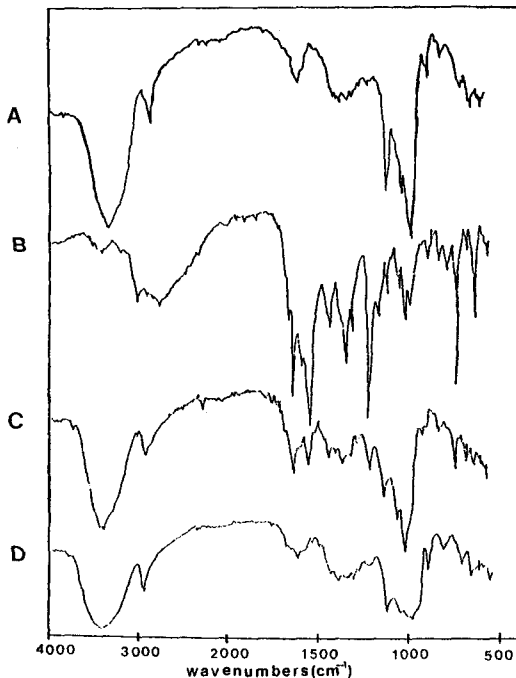


Figure 1—IR spectra of clonixin- β -CD system
Key : A: β -CD, B: clonixin, C: physical mixture, D: inclusion complex.

cm^{-1} 의 C-N 피크가 복합체에서는 둔화되어 나타나는 양상으로 보아 β -CD 공동(cavity)내에 클로닉신이 포접되었음을 알 수 있었다.

Fig. 2는 클로닉신-2-HP- β -CD 복합체의 적외흡수스펙트럼으로 혼합물에서 1640 cm^{-1} 의 C=O stretching band, 1230 cm^{-1} 의 C-N stretching band, 770 cm^{-1} 의 C-H out of plane band 등이 나타났으나 포접화합물에서는 이 모든 band가 소실되어 이것 역시 2-HP- β -CD 공동내로 포접되었음을 시사한다.

Fig. 3과 Fig.4는 클로닉신- β -CD 및 클로닉신-2-HP- β -CD 복합체의 DSC thermogram이다. 클로닉신과 연관된 228°C (m.p.)에서의 흡열피크는 혼합물에서는 229.3°C 로 약간 shift되어 나타났으며 포접복합체에서는 모두 소실되었다.

UV흡광도를 측정하여 구한 포접화합물의 결합몰비는 Table I에서와 같이 β -CD의 경우 1:1.7이었으며 HP- β -CD의 경우 1:1.5이었다.

약물의 용해도

Table II는 클로닉신의 평형용해도이다. 물에서보다 pH 5에서의 평형용해도가 약간 낮았으며 pH 7과 9에서의 용해도는 매우 높고 특히 pH 9에서는 물보다 64배나 높았다. 알칼리성에서는 클로닉신의 $-\text{COOH}$ 기가 염기와 작용하여 해리하여 매우 잘 녹는다. Table III는 30°C 에서 포접 복합체의 물에서의 용해도를 나타낸 표이다. 클로닉신-2-HP- β -CD 복합체의 경우가 가장 용해도가 높았으며 약물 단독의 용해도와 비교하여 약 20배나 증가한 값이었다. Fig. 5는 30°C 의 정제수에서 β -CD, 2-HP- β -CD system의 용해도 상도이다. β -CD의 경우는 $Y=0.000234+0.10327X$ ($r=0.99901$) 이고 안정도 정수 K는 492M^{-1} 이었다. 2-HP- β -CD의 경우는 $Y=0.000224+0.14103X$ ($r=0.$

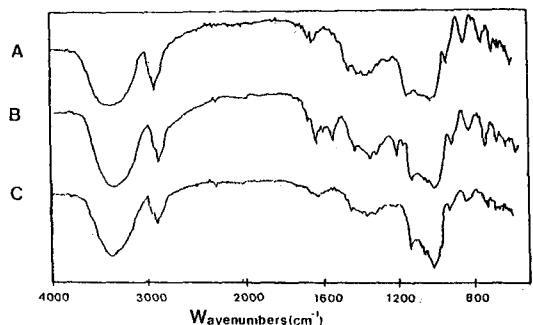


Figure 2—IR spectra of clonixin-2-HP- β -CD system
Key : A: 2-HP- β -CD, B: physical mixture, C: inclusion comple.

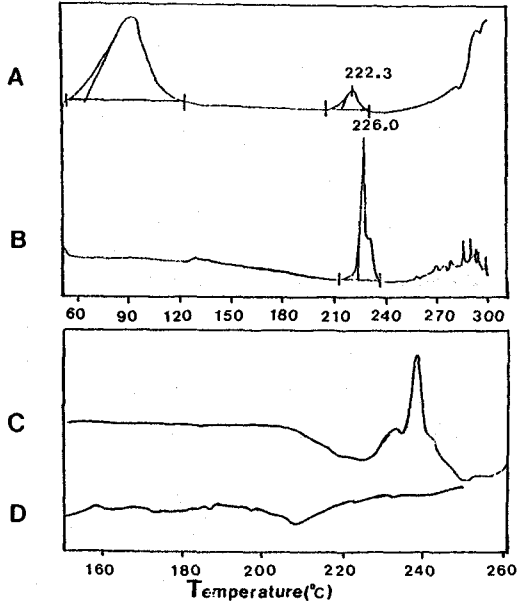


Figure 3—DSC curves of clonixin-β-CD system
Key : A: β-CD, B: clonixin, C: physical mixture, D: inclusion complex.

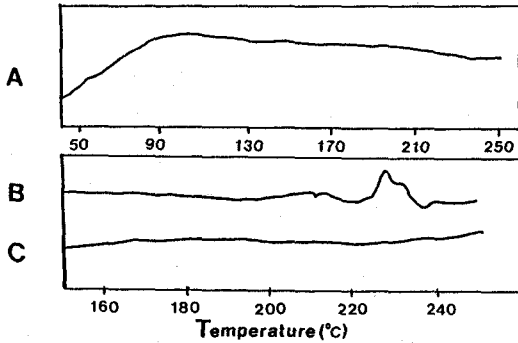


Figure 4—DSC curves of clonixin-2-HP-β-CD system
Key : A: 2-HP-β-CD, B: physical mixture, C: inclusion complex.

Table I—Inclusion Complex Molar Ratio of Clonixin to β- and 2-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin

	Method	Molar ratio	Inclusion ratio(%)
Clonixin : β-CD	FD2	1:1.7	58.8
Clonixin : 2-HP-β-CD	FD1	1:1.9	50.3

99728), K는 733M⁻¹이었다. 이로 보아 HP-β-CD가 β-CD보다 안정한 복합체를 형성함을 알 수 있었다.

용출시험

Fig. 6은 pH 7.2에서의 약물의 용출실험 결과이다. 클로닉신-β-CD 복합체의 경우 물리적 혼합물보다 복

Table II—Equilibrium Solubility of Clonixin at pH 5, 7 and 9

Buffer	Solubility (μg/ml)	Ratio
Water	78.05	1
pH 5 Buffer	72.9	0.9
pH 7 Buffer	4207.0	54
pH 9 Buffer	4993.0	64

Table III—Equilibrium Solubility of Inclusion Complex in Water at 30°C

	Method	Solubility (μg/ml)	Ratio
Clonixin		78.05	1
β-CD	FD	808.06	10.4
2-HP-β-CD	FD	1603.84	20.5

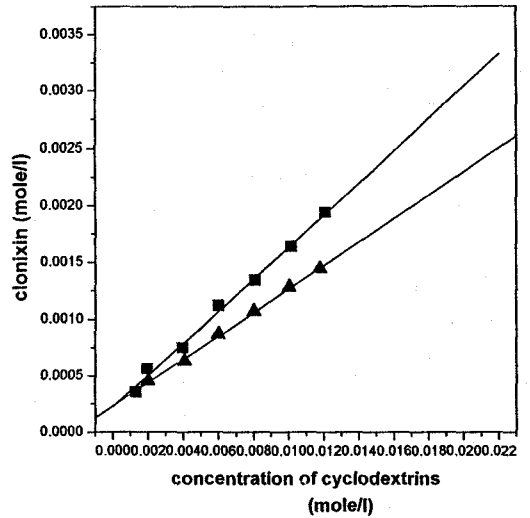


Figure 5—Phase solubility of clonixin-β-CD and clonixin-2-HP-β-CD system in water.
Key : ▲: beta-CD, ■: HP-beta-CD.

합체의 용출이 증가되었다. 클로닉신-2-HP-β-CD 복합체에서는 혼합물이나 복합체 모두 용출이 빨랐으며 β-CD 복합체와 비교하였을 때에도 좀 더 용출이 빨랐다. 모든 포접복합체가 클로닉신 단독에 비해 용출이 월등하게 증가하였음을 알 수 있었다.

Fig. 7과 8은 pH 1.2에서의 약물 용출 그래프이다. 역시 여기서도 약물에 비해 포접복합체의 용출이 훨씬 빨랐음을 알 수 있었다. 클로닉신-2-HP-β-CD 복합체에서는 포접 복합체의 용출이 매우 빨라 5분 이내에 100%에 도달한 것을 볼 수 있었다. 또, 물리적 혼합물의 경우보다도 훨씬 빨라 pH 7.2 때와는 좋은 대조를

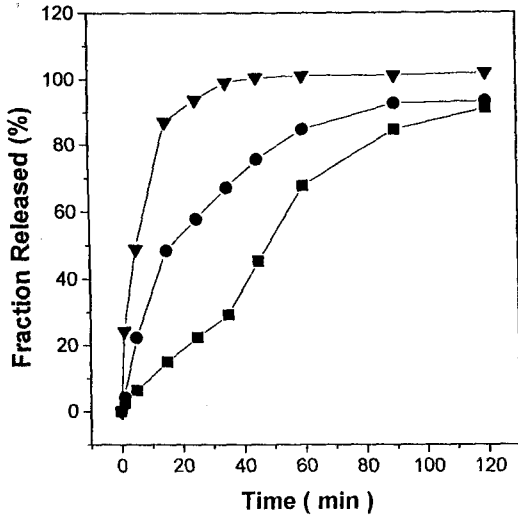


Figure 6—Dissolution profile of clonixin- β -CD system at pH 7.2
Key : \blacksquare : drug+lactose, \bullet : physical mixture, \blacktriangledown : inclusion complex.

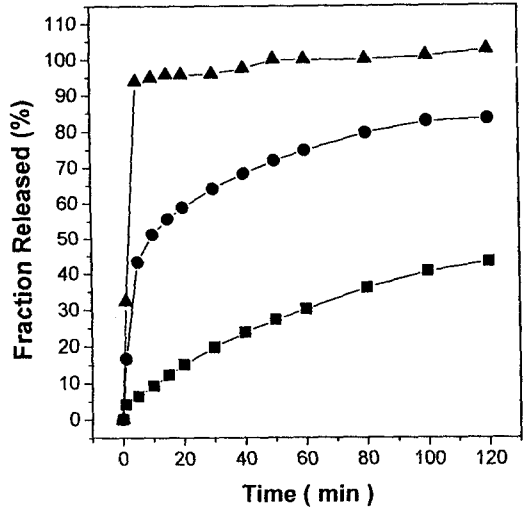


Figure 8—Dissolution profile of clonixin-2-HP- β -CD system at pH 1.2
Key : \blacksquare : drug+lactose, \bullet : physical mixture, \blacktriangle : inclusion complex.

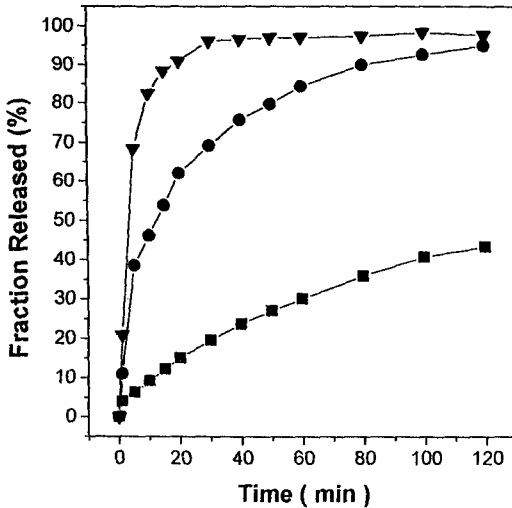


Figure 7—Dissolution profile of clonixin- β -CD system at pH 1.2
Key : \blacksquare : drug+lactose, \bullet : physical mixture, \blacktriangledown : inclusion complex.

보이고 있다. 산성(pH 1.2)에서의 용출속도의 증가는 클로닉신의 위에서의 흡수 속도를 증가시킬 수 있는 것으로 사료된다.

결 론

클로닉신과 β -시클로덱스트린(β -CD) 및 2-히드록

시프로필- β -시클로덱스트린(2-HP- β -CD)과의 포접 복합체 형성과 포접복합체의 용해도 및 용출을 검토한 결론은 다음과 같다.

1. 클로닉신과 β -CD 및 2-HP- β -CD를 동결 건조법으로 제조한 포접 복합체들을 UV, IR, DSC 등으로 분석한 결과 포접복합체의 몰비는 클로닉신- β -CD system의 경우 1:1.7이었으며, 클로닉신-2-HP- β -CD system의 경우는 동결건조법으로 제조하여 1:1.9의 몰비를 얻을 수 있었다.
2. 고체 복합체의 물에서의 평형 용해도는 약물 단독에 비해 9~20배 가량 증가하였으며, 용출속도는 물리적 혼합물 및 클로닉신 단독에 비해 증가되었으며 특히 pH 1.2에서 용출속도가 현저히 증가되어 클로닉신-2-HP- β -CD system의 경우에는 5분 이내에 100% 용출되었다.

문 헌

- 1) S. Jozsef, *Cyclodextrin Technology* : Topics in Inclusion Science, Dordrecht/Boston/London , Kluwer Academic Publishers. (1988)
- 2) S. G. Frank, Inclusion compounds, *J. Pharm. Sci.*, **64**, 1585-1604 (1975).
- 3) K. Uekama, F. Hirayama, Y. Yamada, K. Inaba and K. Ikeda, Improvement of dissolution characteristics and Δ^2 -pros-

- taglandin E₁ methyl ester by cyclodextrin complexation, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1059 (1979).
- 4) T. Tokumura, H. Ueda, Y. Tsushima, M. Kasai, M. Kayano, I. Amada and T. Nagai, Inclusion complexes of cinnarizine with β -cyclodextrin in aqueous solution and in the solid state, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 4179 (1984).
 - 5) M. Paola, Improvement of dissolution properties and microbiological activity of miconazole and econazole by cyclodextrin complexation, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **38**, 119-123 (1992).
 - 6) E. Albers and B.W. Mller, Complexation of steroid hormones with cyclodextrins derivatives, substituent effects of guest molecule on solubility and stability in aqueous solution, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 756-761 (1992).
 - 7) B.J. Anthony and H.L. Fung, Chemical stabilization of a vasoactive S-nitrosothiol with cyclodextrins without loss of pharmacologic activity, *Pharm. Res.*, **8**, 1329-1334 (1991).
 - 8) E. Gendi, A. Gamal, Improvement of dissolution and stability of glutethimide by inclusion into β -cyclodextrin, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **38**, 124-128 (1992).
 - 9) B.R. Gandhi and H.A. Karara, Characterization, dissolution and diffusion properties of tolbutamide- β -cyclodextrin complex system, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **14**, 657-682 (1988).
 - 10) N.M. Sanghavi, K.B. Choudhari, R.S. Matharu and L. Viswanathan, Inclusion complexation of lorazepam with β -cyclodextrin, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **19**, 701-712 (1993).
 - 11) C.D. Yu, S.A. Sweetana, G.J.L. Lee and I.J. Massey, Enhancement of solubility, dissolution rate, and oral bioavailability of RS-82856 by complex formation with cyclodextrins, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **15**, 609-620 (1989).
 - 12) K.H. Jeong, K.S. Kim and Y.S. Ku, Inclusion complexation of chlorpropamide with cyclodextrins, *Yakhak Hoeji*, **30**, 87-95 (1986).
 - 13) W.S. Paik, J.I. Young and K.S. Kim, Inclusion compound of flurbiprofen with cyclodextrin, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **15**, 15-21 (1985).
 - 14) K. Uekama, T. Fujinaga, F. Hirayama, M. Otagiri, M. Yamasaki, H. Seo, T. Hashimoto and M. Tsuruoka, Improvement of the oral bioavailability of digitalis glycosides by cyclodextrin complexation, *J. Pharm. Sci.*, **72**, 1338-1341 (1983).
 - 15) Y. Sato, H. Matsumaru, T. Irie, M. Otagiri and K. Uekama, Improvement of local irritation induced by intramuscular injection of tiamulin by cyclodextrin complexation, *Yakugaku Zasshi* 102, 874 (1982).
 - 16) K. Uekama, F. Hirayama, K. Esaki and M. Inoue, Inclusion complexes of cyclodextrins with cinnamic acid derivatives, dissolution and thermal behavior, *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 76 (1979).
 - 17) K. Han, M.H. Lee and S.K. Kim, Pharmaceutical studies on the inclusion complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs with β -cyclodextrin(I), *J. Kor. Pharm. Sci.*, **13**, 10-22 (1983).
 - 18) T. Higuchi and K. A. Connors, Phase-solubility techniques, *Adv. Anal. Chem. Instrum.*, **4**, 117-212 (1965).
 - 19) J. Blanco, J.L. Vila-Jato, F. Otero and S. Anguiano, Influence of method of preparation on inclusion complexes of naproxen with different cyclodextrins, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **17**, 943-957 (1991).
 - 20) G. Puglisi, N.A. Santagati, R. Pignatello, C. Ventura, F.A. Bottino, S. Mangiafico and G. Mazzone, Inclusion complexation of 4-biphenylacetic acid with β -cyclodextrin, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **16**, 395-413 (1990).
 - 21) I.K. Chun and I.S. Park, Dissolution enhancements of tiaprofenic acid by β -cyclodextrin complexation, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **16**, 55-67 (1986).
 - 22) H.J. Yoon, U.B. Back, S.H. Seo and S.U. Kim, Studies on dissolution of fentiazac from β -cyclodextrin inclusion complex, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **20**, 153-159 (1990).
 - 23) I.J. Oh, J.G. Park, Y.B. Lee and S.C. Shin, Inclusion complex of analgesic and anti-inflammatory agents with cyclodextrins(I), Enhancement of dissolution of ibuprofen by 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **23**, 10-22 (1993).
 - 24) R.D. Narasimha and N. Udupa, Formulation and evaluation of oral and transdermal preparations of flurbiprofen and piroxicam incorporated with different carriers, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **19**, 843-852 (1993).
 - 25) T. Tadakazu, Y. Tsushima, K. Tatsushi, M. Kayano, Y. Machida and T. Nagai, Preparation of cinnarizine/ β -cyclodextrin in-

clusion complex by spray-drying method
and the stability of complex in solid state,

Yakuzaigaku, **45**, 1-6 (1985).