

β-시클로덱스트린과의 포접에 의한 디클로페낙나트륨의 용해도 및 생체흡수율 증가

이경태 · 김종환 · 김주일 · 김승조* · 서희경* · 서성훈†

경희대학교 약학대학, 아주약품 공업(주)*

(1996년 6월 14일 접수)

Solubility and In vivo Absorption Enhancement of Diclofenac Sodium by β-Cyclodextrin Complexation

Jong Hwan Kim, Joo Il Kim, Kyung Tae Lee, Seung Jo Kim* and Hee Kyoung Seo*, Seong Hoon Seo†

College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

*Asia Pharmaceutical Ind. Co. LTD., PyeongTaek-Si 459-140, Korea

(Received June 14, 1996)

Inclusion complexes of diclofenac sodium with β-cyclodextrin were prepared in aqueous solution, alkaline solution and solid phase. The interaction of diclofenac sodium with β-cyclodextrin in pH 9.0 alkaline solution was evaluated by the solubility method and the instrumental analysis such as thermal analysis, infrared spectroscopy, X-ray diffractometry.

The solubility of diclofenac sodium was increased linearly with the increase in the concentration of β-cyclodextrin up to 0.15 mol and showed that the aqueous solubility rate of diclofenac sodium was significantly increased by complex with β-cyclodextrin. The optimum composition of this complex was one molecule of β-cyclodextrin included 1.59 molecular weight of diclofenac sodium as a guest molecule. The pharmacokinetic parameters of the diclofenac sodium and the complex with β-cyclodextrin were studied in rats by oral route. T_{max} between drug alone and inclusion complex showed significant difference to be 120 minute and 20 minute respectively. Both of C_{max} and AUC of inclusion complex was about 40% higher than drug alone. It is estimated from the data in this study that complexation of diclofenac sodium with β-cyclodextrin increased the absorption rate and improved the bioavailability of the diclofenac sodium by the formation of a water-soluble complexes.

Keywords—Solubility, Absorption, Diclofenac sodium, β-cyclodextrin, Complexation

용해도 및 용출증대방법으로는 수용성 고분자물질에 의한 고체분산법,¹⁾ 가용성복합체의 형성,²⁾ 계면활성제의 미셀상호작용을 이용하는 방법,³⁾ 미세화의 방법⁴⁾ 등이 있다. 이러한 방법 중에서 포접화합물은 일반적으로 화학적 결합없이 포접격자를 만드는 환상분자와 공동내에 들어있는 주약분자의 물리적인 결합형태로서 약제학적으로 불안정한 의약품의 안정화, 난용성 약물의 가용화 및 액상물질의 분체화 등으로 이용되고 있다.⁵⁾ Cyclodextrin(CD)은 전분에 cyclodextrin glycosyl-transferase를 작용시켜 얻어지는 환상의 말토올리고당으로 구성 글루코스의 수가 6, 7, 8개인것을 각각 α, β, γ-CD라하며, 이러한 CD들과 천연 CD의 수산기에 여

러 치환기를 도입한 유도체(dimethyl-β-CD, hydroxypropyl-β-CD)들이 약물 담체로 많이 응용되고 있다.⁶⁻¹⁰⁾ β-CD은 물에 대한 용해도가 α또는 γ-CD에 비해 낮고(1.85 g/100 ml, 25°C) 용혈작용이 있다는 단점이 있으나, 산, 알칼리 및 효소 등에 안정하여 체내흡수는 안되고 배설되며, 약물의 용해율과 안정성을 향상시키는 host 분자로서 guest 분자의 생체이용율을 높이는데 사용되어 왔다.¹¹⁻¹³⁾

비스테로이드성 항염증약물(NASID)인 diclofenac sodium(2-[(2,6-Dichlorophenyl) amino] phenyl acetic acid monosodium salt)은 phenyl acetic acid계의 최초의 유도체로서 1960년대에 개발된 경구

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

용 및 주사용의 소염진통제로 널리 이용되고 있으며, cyclooxygenase에 대한 저해제로서 그 효능이 다른 제제(indomethacin, naproxen 등)에 비해 월등히 높은 것으로 알려져왔다.¹⁴⁾ 특히 leukocyte내 지방산의 흡수나 방출을 조절하여 free arachidonate의 농도를 감소시키는 특징을 가지고 있으며¹⁴⁾ 또한 다양한 류머티스 환자에서의 임상 연구결과 치료효과가 indomethacin, acetylsalicylic acid, phenylbutazone, ibuprofen보다 높거나 비슷한 것으로 나타났다.^{15,16)} 그러나, 경구용의 경우 양호한 효능에도 불구하고 낮은 수용성으로 인한 위저류시간 지연때문에 대부분의 비스테로이드계 소염진통제의 부작용과 같이 위장관 점막부에 대한 물리적 부작용을 초래해 왔다.¹⁷⁻¹⁹⁾

본 연구는 디클로페낙나트륨과 β -CD의 다양한 포접 조건에 대한 diclofenac sodium- β -cyclodextrin (DS- β -CD) 포접체를 제조하여 디클로페낙나트륨과의 비교실험을 용해도시험 및 시차주사열량분석, 적외선분광법(IR), X선 회절분석으로 확인 하였다. 또한 약물을 흰쥐에 경구 투여하여 시간에 따른 약물의 혈중농도 변화로부터 얻은 생체이용율을 구해본 결과 및 가지 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

실험 방법

시약 및 기기

시약으로는 디클로페낙나트륨은 아주 약품에서 채공을 받았으며 β -CD, HPLC용 methanol, HPLC용 chloroform은 Sigma의 것을 사용하였고, 기타 시약은 특급시약을 그대로 사용하였다.

기기로는 시차주사열량분석기(Shimadzu DSC 50), 흡광도 측정기(Shimadzu UV 160A), IR 분광광도계(Shimadzu IR 8001), X선 회절분석기(Shimadzu SALD-3001), HPLC(Waters : W 501 HPLC pump, W 441 Absorbance Detector, W 746 Data Module) 등을 사용하였다.

포접복합체의 제조

NaOH 및 NH₄OH 수용액으로 pH를 9.0으로 맞춘 액 60 ml 또는 질소로 충전된 물 60 ml에 β -CD 20 g (1.75×10^{-2} M)을 넣은 액을 교반하면서 용해될 때까지 가열하였다. 완전히 용해되면 디클로페낙나트륨 8.9 g (2.8×10^{-2} M)을 넣고 80°C에서 3시간 교반하고 20°C로 냉각시킨 후 감압여과한 뒤 40°C 이하의 저온에서 건조하여 포접화합물 22.4 g(수득율: 76.3%, (중

량비))을 얻었다.

용해도 측정

물 20 ml에 5.0 g의 디클로페낙나트륨을 넣고 37.0. 5°C로 유지된 진탕 수욕조에서 mechanical stirrer로서 100 rpm으로 72시간 교반하여 포화용액으로 한 후 미리 37°C로 가온된 밀리포아멤브레인 필터(0.45 μ m)로 여과하여 그 여액을 적당히 희석하여 284 nm에서 흡광도 측정법으로 농도를 측정하여 용해도를 측정하였다.

물 용해도는 여러 농도의 β -CD 용액에 과량의 디클로페낙나트륨을 넣고 β -CD의 농도에 따른 디클로페낙나트륨의 용해도를 측정하였다.

시차주사열량(D.S.C)측정

디클로페낙나트륨 50 mg에 해당하는 시료를 10°C/min의 승온 속도로 50-500°C의 온도범위에서 디클로페낙나트륨, β -CD 및 포접복합체에 대한 D.S.C를 측정하였으며 표준물질로는 α -alumina powder를 사용하였다.

적외선 스펙트럼 분석

대한약전 제 6개정 KBr disk method에 따라 디클로페낙나트륨, β -CD 및 포접복합체에 대한 IR 흡수 스펙트럼을 측정하였다.

X선 회절분석

디클로페낙나트륨, β -CD 및 포접복합체에 대하여 분말법으로 회절각(2 θ) 5~40°범위에서 주사속도 10°/min으로 측정하였다.

흰쥐에 대한 시료투여 및 처치

실험동물로 150~250 g의 웅성 Sprague-Dawley rat를 사용하였다. 6마리를 1군으로하여 실험전에 24시간 절식시킨 후 Zoletil 50®(5 mg/0.1 ml/200 g, virbac사)으로 마취시켰다. 좌측대퇴부 동맥에 50 I.U./ml 헤파린을 함유한 생리식염수를 채운 폴리에틸렌 튜브(Intramedic®, Clay Adams사)를 삽입하고 목 뒷부분으로 관통시킨 뒤 절개부분을 봉합전사로 봉합한 다음 마취에서 충분히 회복된 후 실험에 사용하였다.

약물투여 및 검체 채취

디클로페낙나트륨 1 mg에 해당하는 양을 생리식염수에 현탁시킨 뒤 300 g당 6.8 mg에 해당하는 양을 ball tipped needle을 사용하여 경구투여한 후 10, 20, 45, 60, 90, 105, 120, 135, 150, 180, 240, 300분에 300 μ l를 채혈한 뒤 헤파린(50 I.U./ml) 함유 생리식염수 100 μ l를 압입하여 튜브내의 혈액응고를 방지하였다. 채취한 혈액은 냉장보관(4°C 이하) 후 원심분리

(10,000 rpm, 15분)하여 혈장 200 μl를 분취했다. 여기에 0.1 M HCl 1ml를 가하고 15초간 vortex하여 단백질을 변성시키고, HPLC용 chloroform 3ml를 가하여 2분간 교반함으로써 약물을 클로로포름층으로 이행시켰다. 이 층에서 2 ml를 취하여 클로로포름을 증발시키고, mobile phase(MeOH: Water = 1:1) 50 μl를 가한 뒤 2~3분간 50°C로 증탕하여 원심분리(3,000 rpm, 5분)시킨 후 상등액 10 μl를 취하여 HPLC로 측정하였다.²⁰⁾ Column은 Bondapak C₁₈ reverse phase column(3.9 mm×300 mm, Waters)을 사용하였고, 검출 조건으로 flow rate는 1 ml/min 및 280 nm에서 UV 흡광도로 측정하였다.

실험결과 및 고찰

포접화합물의 제조 및 분석

디클로페낙나트륨과 β-CD를 물 또는 알칼리 용액 중에서 포접시킴으로써 용해도가 높고 디클로페낙나트륨의 생체이용율을 높일수 있는 새로운 방법에 의한 포접화합물을 만드는 것을 목적으로 하였다. 일본에서는 디클로페낙산을 시클로덱스트린과 혼합한 후 물에 가하여 교반하고 여액을 분무 건조하는 방법을 사용하였으나 제조공정이 복잡하고 디클로페낙산이 매우 난용성이어서 포접효과가 매우 낮다. 본 실험에서는 1% 암모니아수, 1% 수산화나트륨 및 질소로 치환된 물의 용액중에서 완전히 용해될 때까지 가열하고 서서히 냉각시켜 결정화하여 일정온도에서 건조하고 분쇄하여 포접시킨후 미백색의 무정형 분말포접화합물을 제조하였다. 디클로페낙나트륨을 UV 흡광도로 측정하여 정량한 결과 각각의 용매조건에서 32.5%, 34.2% 및 34.5%(중량 %)로 나타났다. 실험에 사용된 용매로는 물 또는 알칼리 용액을 사용하였는데 물로 사용하는 경우 물속의 이산화탄소의 영향으로 미량이지만 디클로페낙산이 생성되므로 이를 방지하기 위하여 불활성 가스인 질소로 이산화탄소를 미리 완전하게 치환시켰다. 알칼리 용액으로는 암모니아수, 수산화나트륨 또는 탄산수소나트륨등을 사용할 수 있으나, 이중 암모니아수가 가장 적절한데 암모니아수는 포접화합물의 건조시에 모두 증발하여 최종 목적물의 pH에 영향을 주지 않는 반면 수산화나트륨 또는 탄산수소나트륨은 별도로 세척하지 않으면 목적물의 pH에 영향을 미치게 되어 세척으로 인한 수득율의 감소를 일으키기 때문이다. 앞으로 시험에 사용되는 DS-β-CD의 용매는 암모니아

수를 사용하였다.

디클로페낙나트륨의 용해도 변화

물에 대한 용해도 변화에서 pH 9인 암모니아수의 용매를 사용하여 제조한 DS-β-CD(8.1 g/100 ml)는 디클로페낙나트륨(2.5 g/100 ml) 보다 37°C에서 물에 대한 용해도가 약 3.2배 증가함을 보였다.

디클로페낙나트륨과 β-CD 포접시의 최적비율을 알아보기 위하여 물 용해도를 측정하였고, 그 결과는 Fig. 1에 나타내었다. β-CD의 농도가 증가할수록 디클로페낙나트륨의 양은 증가하고 β-CD 한분자당 디클로페낙나트륨이 1.59분자 해당량이 최대로 포접되는 것을 알 수 있으며(1:0.625) β-CD의 양이 적정 몰비 이상으로 증가하면 용해도가 감소됨을 알 수 있다. 그러나 그림에서 나타난 이상적인 포접비율은 용매의 종류, 수소이온농도 및 포접시 온도 등의 포접조건에 따라 크게 다를 수도 있는데, 용매의 양은 디클로페낙나트륨과 β-CD의 합에 1.4배가 가장 적합하며 포접용액의 온도에 따라 1:1에서 1:3까지 가능하다. 즉 온도가 80~90°C일 때에는 디클로페낙나트륨 또는 β-CD와 물의 비율은 1:1.4, 70~80°C일 때에는 1:1.8 및 60~70°C일 때에는 1:2.5로서 이상적으로 포접이 가능하다.

용매의 양이 증가되면 용매의 제거가 어렵고 수득율이 떨어질 우려가 있으며, 용매의 양이 부족할 경우에는 포접효과가 떨어질 수 있다. 또한 건조온도에 따라서도 포접효과를 극대화할 수 있는데 그것은 수득된 포접물의 건조에 있어서 가능한 저온건조가 유익하며 수분함유량이 클수록 저온을 유지하여야 한다. 이상적인 포접물 건조조건은 초기 40°C 이하에서 건조하며 수분함유량이 20% 이하가 되면 60°C, 10% 이하가 되면 80°C까지 온도를 상승시킨다.

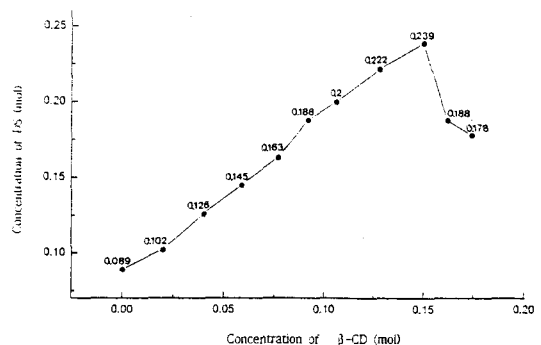


Figure 1—Phase solubility diagram of diclofenac sodium(DS)/β-CD system in distilled water at 37°C.

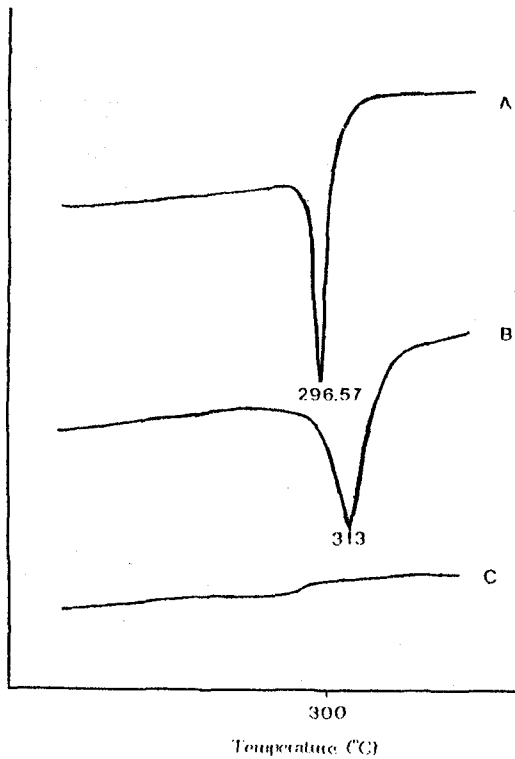


Figure 2—DSC thermodiagrams of DS(A), β -CD(B) and DS- β -CD(C).

시차주사열량분석(D.S.C)에 의한 포접물의 분석

Fig. 2는 디클로페낙나트륨, β -CD, DS- β -CD의 열 분석 결과이다. 디클로페낙나트륨은 296.57°C 부근에서, β -CD는 313°C에서 용해로 인한 흡열피크가 강하게 나타난다. DS- β -CD 포접화합물에서는 두개의 특징적인 흡열패턴이 없어졌으므로 이 결과에서 디클로페낙나트륨이 β -CD의 공동내에 포접되었음을 확인할 수 있다.

적외선 스펙트럼

Fig. 3는 디클로페낙나트륨, β -CD 및 DS- β -CD 포접혼합물의 IR 스펙트럼의 결과이다. 1610~1550 cm^{-1} 에서 강하게 나타났던 디클로페낙나트륨의 -C=O 신축 진동피크의 강도가 소멸되었음을 확인할 수 있었고, -C=O 기가 텍스트란의 OH기와 결합한 것으로 예측되며 이로부터 디클로페낙나트륨이 β -CD의 공동내에 포접되었음을 시사하고 있다.

X선 회절 분석

Fig. 4는 디클로페낙나트륨, β -CD, DS- β -CD에 대한 결정성을 X-ray diffraction pattern으로 비교한 것이다. 포접화합물의 회절 패턴은 β -CD 단독과 디클

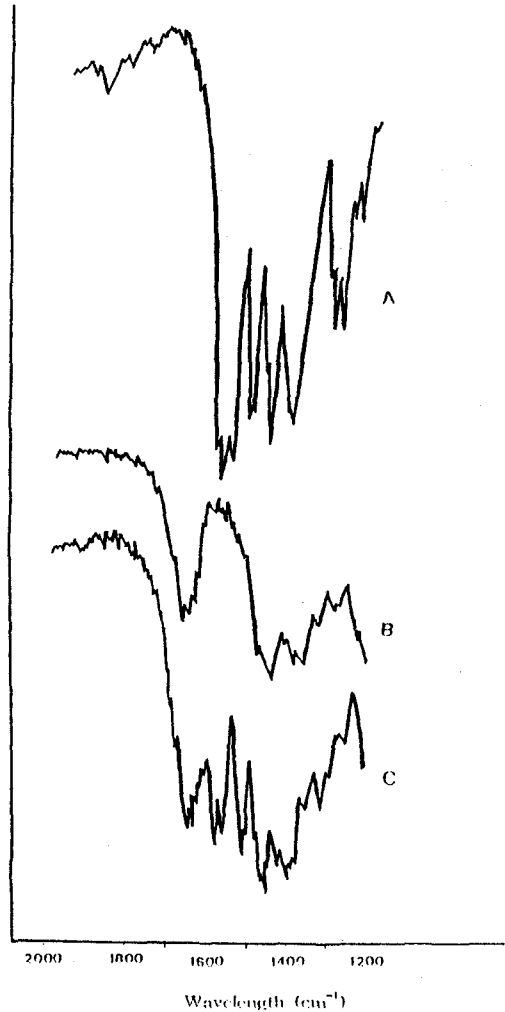


Figure 3—IR spectra of DS(A), β -CD(B) and DS- β -CD(C).

로페낙 단독보다는 포접화합물의 결정성이 현저히 감소함으로써 포접화합물이 각각의 물질보다 용해성 증가에 기여할 것으로 추정된다.

혈장중 약물농도의 변화

혈장내 디클로페낙나트륨의 HPLC 분석에 의해 체류시간을 측정된 결과 약 8.5 분대에 피크가 나타났으며 검량선을 구한 결과 50~200 ng/ml 의 농도 범위에서 좋은 직선상을 보여 주었다. 디클로페낙나트륨과 포접화합물을 각각의 쥐에 경구 투여한후 나타난 경시적 혈중농도의 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 포합체는 디클로페낙나트륨 단독보다 매우 빠른 혈중 최대농도를 관찰하였고 생체이용률도 증가하였다. 약물동력학적 파라미터를 구한 결과, 포접복합체의 T_{max} 는 20분, 디클로

결론

디클로페낙나트륨과 β-CD의 포접복합체에 관한 연구 결과는 다음과 같이 요약할 수 있다.

1. 1% 암모니아수, 1% 수산화나트륨 및 질소로 치환된 물을 용매로 사용하여 만든 미백색의 무정형 분말포접화합물의 디클로페낙나트륨을 UV 흡광도로 측정된 결과 각각 32.5%, 34.2% 및 34.5%(중량 %)로 나타났다.

2. DS-β-CD의 포접복합체의 생성여부는 적외선분석법, X-선회절 및 시차주사열분석에 의하여 확인되었다.

3. DS-β-CD의 포접복합체는 β-CD 한 분자당 디클로페낙나트륨 1.59 분자 해당량이 최대로 포 될수 있으며 물에 대한 용해도에서 디클로페낙나트륨보다 약 3.2배의 용해도 증가를 관찰하였다.

4. 포접복합체를 쥐에 경구 투여한 결과 디클로페낙나트륨보다 T_{max} 는 120분에서 20분으로 훨씬 짧아졌고, C_{max} 와 AUC는 약 40% 증가하여 생체내에서의 신속한 흡수 및 생체이용율의 증가를 확인 하였다.

문헌

- 1) S.C. Shin, I.J. Oh and I.B. Koh, Enhancement of dissolution properties of poorly soluble drugs (V): Enhanced dissolution of furosemide by cogrinding or coprecipitating with povidone, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **20**, 193-198 (1990).
- 2) C.K. Kim and H.J. Shin, Soluble complex formation of rifampicin with arginate, *Yakhak Hoeji*, **27**, 11-19 (1983).
- 3) Y.B. Jun, S.I. Kim and Y.I. Kim, Effect of surfactants on dissolution rate of mefenamic acid capsules, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **20**, 121-127 (1990).
- 4) I.B. Koh, S.C. Shin and I.J. Oh, Enhancement of dissolution properties of poorly soluble drugs (IV): Micronization of furosemide by recrystallization method, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **18**, 55-59 (1988).
- 5) I. K. Chun, 시클로덱스트린의 의약품제제에의 응용. 의약품 첨가제와 제제개발. 한국약제학 회. 43-85. (1988).
- 6) A. Yoshida, M. Yamamoto, T. Itoh, T. Irie, F. Hirayama and K. Uekama, Utility of 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in an intramus-

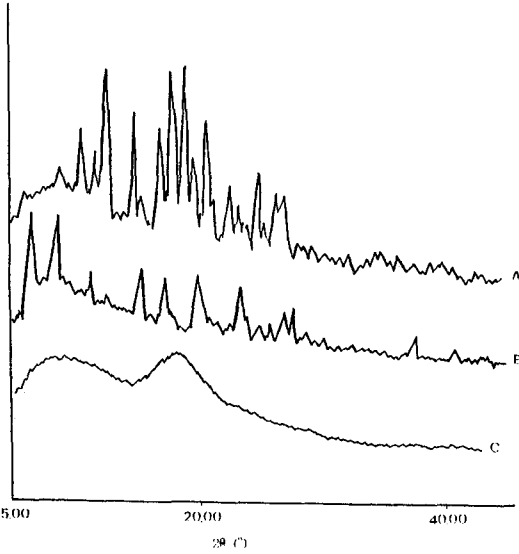


Figure 4— Powder X-ray diffraction patterns of DS(A), β-CD(B) and DS-β-CD(C).

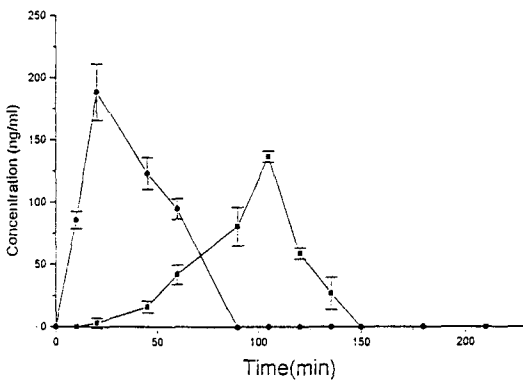


Figure 5— Plasma concentrations of DS following oral administration of DS(●) and DS-β-CD(■).

페낙나트륨은 120분이며 각각의 C_{max} 는 188.67 ± 27.59 ng/ml와 137.33 ± 5.51 ng/ml의 값을 얻을 수 있었다. 또한 약물의 클리어런스나 생체이용율 평가에 유용한 지표인 곡선하 면적(AUC)의 경우 포접복합체는 8762.50 ± 715.23 min.μg/ml, 디클로페낙나트륨은 6165 ± 905.98 min.μg/ml로 C_{max} 와 AUC 모두 약 40%의 차이를 보였다. 따라서 DS-β-CD는 디클로페낙나트륨에 비하여 수용성의 증가로 인한 약물의 흡수속도가 현저히 빨라져서 신속한 소염진통효과가 나타날 것으로 예상되며 이는 디클로페낙나트륨 사용의 큰 단점인 위장 장애의 감소에도 큰 영향을 미칠 수 있으며 이에 대한 병리학적 연구가 따라야 한다고 사려된다.

- cular injectable preparation of nimodipine, *Pharmaceutical Society of Japan*, **38**(1), 176-179 (1990).
- 7) S.C. Szathmary, K.U. Seiler, I. Luhmann and H.J. Huss, Pharmacokinetic behaviour and absolute bioavailability of hydroxypropyl β -cyclodextrin after increasing doses in volunteers, *Janssen Research Foundation*, 535-540.
 - 8) I.J. Oh, J.G. Park, Y.B. Lee and S.C. Shin, Inclusion complex of analgesic and antiinflammatory agents with cyclodextrins (1): Enhancement of dissolution of Ibuprofen by 20-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **23**(1), 11-18 (1993).
 - 9) T. Imai, M. otagiri, H. Saito and K. Uekama, Inclusion mode of flurbiprofen with β -cyclodextrin and heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin, and improvements of some pharmaceutical properties of flurbiprofen by complexation, *Chem. Pharm. bull.*, **36**(1), 354-359 (1988).
 - 10) M. Otagiri, K. Uekama, T. Imai, T. maeda, A. Takadate and S. Goya, Comparative study on inclusion complexation of β -cyclodextrin and tri-O-methyl- β -cyclodextrin with several drugs in aqueous solution, *Acta. Pharm. Suec.*, **21**, 357-366 (1984).
 - 11) Y. Nozawa, and A. Yamamoto, Effects of roll mixing with β -cyclodextrin on enhancing solubilities of water insoluble drugs, *Pharm. Acta. Helv.*, **64**(1), 24-29 (1989).
 - 12) H.T. Kim, K.O. Park and S.H. Seo, Dissolution and stability enhancements of trimethoprim by β -cyclodextrin polymer inclusion complexation, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **22**(2), 105-113 (1992).
 - 13) I.K. Chun and I.S. Park, Dissolution enhancement of tiaprofenic acid by β -cyclodextrin complexation, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **16**(2), 55-67 (1986).
 - 14) P.A. Insel, Analgesic-antipyretics and antiinflammatory agents. In the Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics. A.G. Gilman, T.W. Rall, A.S. Nies and P. Taylor, McGraw Hill Inc. New York. U.S.A. 638-681 (1991).
 - 15) Matru, M. Pentotila, J. Pensonen, P. Salme-la, O. Suchonen and T. Sanck, *Scand. J. Rheumatol.*, **22**, 51. (1978).
 - 16) A. Kajander and J. Martio, *Scand. J. Rheumatol.* **22**, 57. (1978).
 - 17) L.L. Lanza, A.M. Walker, E.A. Bortnichak and N.A. Dreyer, Peptic ulcer and gastrointestinal hemorrhage associated with nonsteroidal antiinflammatory drug use in patients younger than 65 years, *Arch. Intern. Med.*, **155**(13), 1371-1377 (1995).
 - 18) J.A. Melo Gomes, S.H. Roth, J. Zeeh, G.A. Bruyn, E.M. Woods and G.S. Geis, Double-blind comparison of efficacy and gastrointestinal safety of diclofenac/misoprostol, piroxicam, and naproxen in the treatment of osteoarthritis, *Ann. Rheum. Dis.*, **52**(12), 881-885 (1993).
 - 19) M.S. al-Ghamdi, A.S. Dissanayake, Z.A. Cader and S. Jain, Tenoxicam-induced gastropathy in the rat: a comparison with piroxicam and diclofenac sodium, and the inhibitory effects of ranitidine and sucralfate, *J. Int. Med. Res.*, **19**(3), 242-248 (1991).
 - 20) S.A. Said and A.A. Sharaf, Pharmacokinetics of diclofenac sodium using a developed HPLC method, *Arzneim-Forsch./Drug Res.* **31**(H), Nr. 12, 2089-2090 (1981).