

히드록시프로필-베타-시클로덱스트린과 피록시캄 및 테녹시캄 간의 복합체 형성

김주현 · 최후균[†]

조선대학교 약학대학
(1999년 12월 13일 접수)

Complexation of Piroxicam and Tenoxicam with Hydroxypropyl- β -cyclodextrin

Ju-Hyun Kim and Hoo-Kyun Choi[†]

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea
(Received December 13, 1999)

ABSTRACT—One of the methods to increase the solubility of a drug is to use complexation with a cyclodextrin. Due to the hydrophobic nature of the interior cavity of the cyclodextrin, it has been known that undissociated lipophilic drugs can be included within the cyclodextrin by hydrophobic interaction. Recently, inclusion of hydrophilic or dissociated form of a drug has been investigated. In this study, the synergism of pH and complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD) to increase the solubility of two oxicam derivatives was investigated. In addition, the effect of partition coefficient of dissociated and undissociated form of the drug on the extent of complexation with HP β CD was studied. The solubility was measured by equilibrium solubility method. The solubility of tenoxicam and piroxicam increased exponentially with an increase in solution pH above the pKa of the drug in the presence and absence of HP β CD. The solubility of the drugs increased linearly as a function of HP β CD concentration at fixed pH. Although the stability constant of ionized species is less than that of the unionized species, the concentration of the ionized drug complex is greater than that of the unionized drug complex due to higher concentration of ionized species at pH 7.3.

Keywords—Solubilization, Tenoxicam, Piroxicam, Hydroxypropyl- β -cyclodextrin, pH, Inclusion complexation

약물의 제형 개발이나 위장관 흡수 증진을 위해서 수용액 상에서 약물의 용해도는 중요한 의미를 가지며 많은 연구자들에 의해 약물의 용해도 증가를 위한 여러 노력들이 이루어져 왔다. 용해도 증진을 위한 다양한 방법 중 복합체 형성이 많이 연구되고 있으며 그 대표적인 것으로는 시클로덱스트린과의 포접복합체 형성을 이용하는 방법을 들 수 있다.^{1,2)} 시클로덱스트린 내부는 methylene group 때문에 소수성을 나타내며 지용성 약물과 소수성 상호작용에 의하여 포접화합물을 형성하며 약물의 용해도뿐만 아니라 안정성, 용출속도, 생체내이용률에도 영향을 미친다. 시클로덱스트린의 내부의 소수성 특성으로 인하여 주로 난용성 약물과의 상호작용에 대하여 연구되어 왔으나 수용성 약물이나 해리형 약물과의 상호작용에 관한 연구는 제한적이었다.³⁾ 이는 시클로덱스트린에 의한 가용화는 친유성의 성질을 나타내는 약물이나 비해리형들이 해리형이 형성하는 복합체에 비해 더 안정한 복합체를 형성할 것이고 또한 약물의 복합체 형성과 용해도의 증가에 주된 기여를 하고 있을 것으로 생각되어지

기 때문이다.²⁾ 그러나 최근들어 시클로덱스트린과 약물의 복합체 형성에 있어서 해리형도 복합체 형성에 의한 용해도 증가에 크게 기여한다는 연구 결과가 보고된 바 있다.^{4,5)}

이 연구에서는 비스테로이드성 소염 진통제로서 유사한 화학구조를 가지고 있으며 용해도가 다른 피록시캄과 테녹시캄을 모델 약물로 하여 pH와 포접복합체 형성을 통한 용해도의 증가를 연구하고 해리형과 비해리형 약물이 시클로덱스트린에 포접되는 정도와 각각의 분배계수와 어떠한 상관관계가 있으며 보다 효율적으로 포접화합물을 형성하는 방법을 알아보려고 하였다.

실험방법

시약 및 기기

피록시캄과 테녹시캄은 제일약품(Seoul, Korea)으로부터 제공받았으며, 2-히드록시프로필- β -시클로덱스트린(HP β CD)은 분자량이 1500인 것으로 Aldrich Chemical Co.(MO, U.S.A.)에서 구입하였다. 인산이수소칼륨과 인산일수소나트륨(12수화물)은 Junsei Chemical Co.(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. pH 4.0과 7.0의 표준 완충용액은 Shinyo

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 062)230-6367, E-mail : hgchoi@chosun.ac.kr

Pure Chemicals Co.(Osaca, Japan)에서 구입하였으며 pH는 Jenco pH meter (model 1671)를 사용하여 측정하였다. 실험에 사용된 다른 시약들은 1급 시약 이상을 구입하여 더 이상 정제하지 않고 사용하였다.

pH-용해도 관계

10%(w/v)의 HP β CD 용액과 HP β CD이 들어있지 않은 용액에서 pH 변화에 따른 피록시캄과 테녹시캄의 용해도를 측정하였다. 인산과 NaOH를 이용하여 pH를 3.3에서 7.3의 범위로 조절한 인산완충용액에 충분한 양의 약물을 가하여 테프론 코팅된 마그네틱바로 20°C에서 3일간 저어줌으로써 포화용액을 제조하였다. 이 포화 용액을 0.45 μ m 밀리포아필터 (Millipore Co., Before, MA, U.S.A.)로 여과한 후 적당히 희석하여 HPLC로 분석하였다.

HP β CD의 농도-용해도 관계

HP β CD의 농도가 해리형과 비해리형의 용해도에 미치는 영향을 연구하기 위하여 pH는 각각 3.3과 7.3으로 고정시키고 HP β CD의 농도를 2.0, 5.0, 7.5, 10, 20 (w/v)%가 되도록 만든 후 과량의 피록시캄과 테녹시캄을 가하여 위와 동일한 방법으로 포화용액을 제조하고 용해도를 측정하였다.⁵⁾

분배계수의 측정

해리형과 비해리형 약물의 분배계수를 측정하기 위하여 pH 3.3과 7.3의 수용액과 n-옥탄올간의 분배계수를 측정하였다. pH 3.3과 7.3의 수용액 제조는 앞에서 설명한 방법과 동일한 방법으로 수행하였다. 분배계수를 측정할 두 용액상은 서로 미리 포화 시킨 후 분리한 n-옥탄올 층에 2 mg/ml의 농도가 되도록 약물을 가한 후 완전히 녹이고 이 두 용액 상을 섞었다. 두 층이 충분히 섞일 수 있는 속도로 테프론 코팅된 마그네틱바(bar)로 상온에서 2일간 저어준 후 두 층을 분리하고 두 층 각각 적당히 희석하여 HPLC로 분석하였다.

약물의 정량

피록시캄과 테녹시캄의 분석에 사용된 HPLC (Shimadzu Scientific Instruments Inc., MD)시스템은 UV detector (SPD-10A), pump (LC-10AD) 및 autosampler (SIL-10A)로 이루어져 있으면 칼럼은 C8 역상 칼럼(Alltima, Alltech Associates Inc., IL)이 사용되었다. 이동상은 0.1% 인산을 함유한 70% 메탄올 수용액을 사용하였으며 유속은 1.0 ml/min, 검출파장은 307 nm이었다. 피록시캄과 테녹시캄 표준용액의

제조는 약물 10 mg을 정밀하게 칭량하여 메탄올 10 ml에 녹인 후 분석하고자 하는 용액과 동일 조건의 용액을 이용해 사용 직전 적정 농도로 희석 제조하여 사용하였다.

이론 및 계산식

pH가 약물의 용해도에 미치는 영향

해리될 수 있는 약물의 용해도는 용액의 pH에 영향을 받는다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. 약물의 용해도, 이온화상수 (pK_a) 그리고 용액의 pH간의 관계는 산성약물의 경우 식 (1)로 요약 될 수 있다.

$$[D_{tot}] = [D_u] + [D_i] = [D_u] + [D_u] \times 10^{pH-pK_a} \quad (1)$$

$[D_u]$ 와 $[D_i]$ 는 각각 약물의 비해리형 약물과 해리형 약물의 수용액 내에서의 용해도이며 $[D_{tot}]$ 은 수용액상에서 약물의 전체 용해도를 나타낸다. $[D_u]$ 는 pH와 무관한 약물 고유 용해도이므로 식 (1)은 약물의 pK_a 보다 높은 pH에서 해리형 약물의 농도는 용액의 pH가 증가함에 따라 지수함수적으로 증가함을 보여준다.

복합체 형성이 약물의 용해도에 미치는 영향

리간드와 약물이 1:1로 결합하는 경우에 있어서 리간드 존재 시 비해리형 약물과 해리형 약물의 전체 농도($[D_u^{tot}]$, $[D_i^{tot}]$)는 식 (2)와 (3)으로 설명된다.⁴⁾

$$[D_u^{tot}] = [D_u] + \frac{K_u[D_u][L_{tot}]}{1 + K_u[D_u]} \quad (2)$$

$$[D_i^{tot}] = [D_u] \times 10^{pH-pK_a} + \frac{K_i[D_u] \times 10^{pH-pK_a}}{1 + K_i[D_u] \times 10^{pH-pK_a}} [L_{tot}] \quad (3)$$

$[D_u]$ 는 ligand와 결합하지 않은 비해리형 약물의 수용액 중의 용해도 즉, 약물의 진 용해도를 나타내고 $[L_{tot}]$ 은 가하여진 리간드 전체 농도를 의미한다. 비해리형과 해리형의 포접복합체 형성 평형상수인 K_u 와 K_i 는 식 (4) 및 (5)와 같이 정의할 수 있다.

$$K_u = \frac{[D_uL]}{[D_u][L]} \quad (4)$$

$$K_i = \frac{[D_iL]}{[D_i][L]} \quad (5)$$

pH와 복합체 형성이 약물의 용해도에 미치는 영향

리간드의 존재 시 용해되어 있는 약물은 네 가지 종류로

존재할 수 있고 평형상태에서 이것들은 식 (6)의 관계로 나타내어진다.

$$[D_{tot}] = [D_u] + [D_u] \times 10^{pH-pK_a} + \frac{K_u[D_u]}{1+K_u[D_u]}[L_{tot}] + \frac{K_i[D_u] \times 10^{pH-pK_a}}{1+K_i[D_u] \times 10^{pH-pK_a}}[L_{tot}] \quad (6)$$

진용해도 ([Du])

식 (1)을 다르게 표현하면 식 (1)-3로 나타낼 수 있다.

$$[D_{tot}] = [D_u] \times (1 + 10^{pH-pK_a}) \quad (1)-3$$

만약, $10^{pH-pK_a} \ll 1$ 이라면

$$[D_{tot}] \approx [D_u] \quad (1)-4$$

따라서 약물이 거의 해리 되지 않은 pH에서 약물의 겉보기 용해도로 진용해도를 구할 수 있다.

해리 상수 (pKa)

식 (1)을 변형하면

$$\log\{[D_{tot}]-[D_u]\} = pH + \log[D_u] - pK_a \quad (1)-2$$

이 고 등식의 $\log\{[D_{tot}]-[D_u]\}$ 를 Y로 $pH + \log[D_u]$ 를 X로 놓고 회귀분석을 하면 Y절편에서 pKa를 구할 수 있다.

포접복합체 형성 평형상수 (Ku, Ki)

비해리형의 포접복합체 형성상수는 식 (2)와 (3)을 이용하여 구할 수 있다. 즉 가하여진 리간드 농도를 X값으로 해리형이나 비해리형의 총 농도를 Y값으로 하였을 때 기울기를 통해 Ku와 Ki값을 구한다.

해리형과 비해리형의 분배계수

비해리형의 분배계수는 수상의 pH가 약물이 거의 해리하지 않는 조건에서의 약물의 분배계수를 측정함으로써 얻을 수 있다.

해리형의 분배계수는 약물이 어느 정도 해리될 수 있는 pH에서의 약물의 겉보기 분배계수를 이용하여 구할 수 있다. 약물이 해리되는 pH에서의 겉보기 분배계수는 해리형뿐만 아니라 비해리형의 분배 현상에 의해 나타나고 이는 식 (7)로 표현되며 이 식을 이용하여 PCi를 구할 수 있다.

$$PC_a = \frac{PC_u + 10^{pH-pK_a} \times PC_i}{1 + 10^{pH-pK_a} \times 1} \quad (7)$$

PCu와 PCi는 비해리형과 해리형의 분배 계수이고 PCa는 일정 pH에서의 겉보기 분배계수이다.

결과 및 고찰

Figure 1과 Figure 2는 HP β CD가 10% 존재할 때와 존재하지 않을 때 pH의 변화에 따른 피록시캄과 테녹시캄의 용해도 변화를 보여준다. 실험을 통하여 측정된 피록시캄과 테녹시캄 각각의 pKa는 5.38과 5.44로 거의 유사하였다. 이 두 약물은 약 산성 약물이므로 낮은 pH에서는 용해도가 낮은 값으로 거의 변화가 없으나 pKa 값 이상에서는 식 (1)을 통해 예상하였듯이 지수 함수적으로 용해도가 증가하는 것으로 나타났다. HP β CD의 내부는 소수성 성질을 나타내기 때문에 해리형보다는 비해리형 약물이 주로 포접될 것이며 pH가 증가하여도 비해리형의 농도는 변하지 않

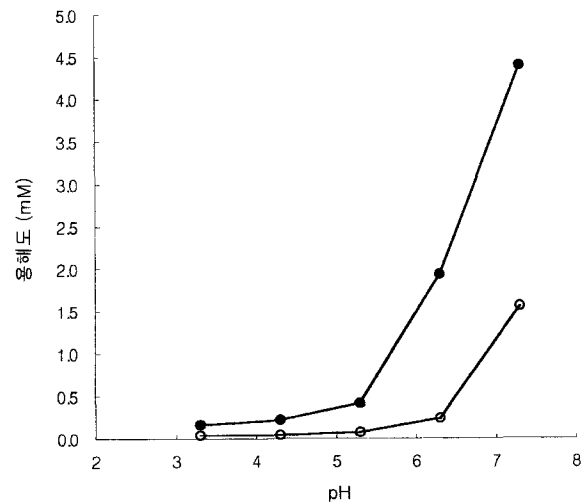


Figure 1-Effect of pH on the solubility of Tenoxicam with 10% HP β CD(●) and without 10% HP β CD(○).

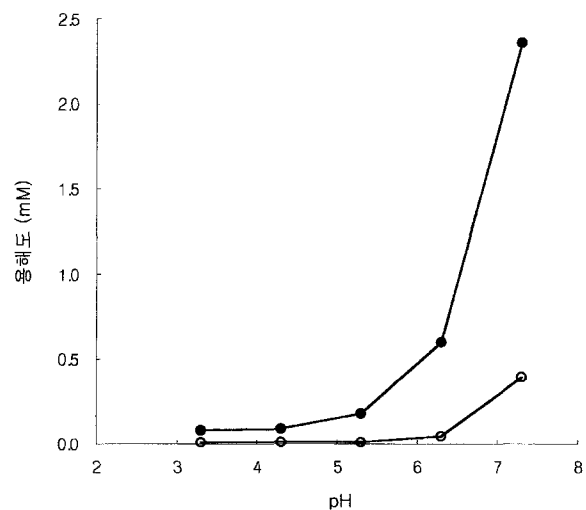


Figure 2-Effect of pH on the solubility of Piroxicam with 10% HP β CD(●) and without 10% HP β CD(○).

기 때문에 HP β CD에 의해 증가되는 용해도는 pH에 무관하게 거의 일정할 것이다. 따라서 HP β CD가 존재할 때 존재하지 않는 경우에 비해 용해도 곡선이 상부로 이동할 것이나 이동하는 정도는 pH와 무관하기 때문에 두 곡선이 서로 평행하는 모양을 예상할 수 있다. 그러나 이러한 예상과는 달리 Figure 1과 Figure 2에서는 HP β CD가 존재할 때 용해도가 더욱 크게 증가하는 것을 볼 수 있다. 이러한 결과는 비해리형뿐만 아니라 해리형도 HP β CD와 상호작용을 하고 있으며 해리형과 비해리형의 물리화학적 성질에 따라 상호작용의 정도가 다름을 시사하고 있다.

Figure 3은 pH 3.3과 7.3에서 HP β CD의 양을 2%에서부터 20%까지 증가시켰을 때 테녹시캄과 피록시캄의 용해도 증가를 보여주고 있다. pH에 따라 기울기는 다르지만 HP β CD의 농도 증가에 따라 4가지 종(species)의 전체 용해도도 직선적으로 증가하는 것을 볼 수 있다. pH 3.3에서는 대부분 비해리형으로 존재하기 때문에 HP β CD의 농도가 증가함에 따라 용해도가 증가하는 것은 주로 $[D_u]$ 와 $[D_uL]$ 에 기인하나 pH 7.3에서는 $[D_i]$ 와 $[D_iL]$ 의 증가의 영

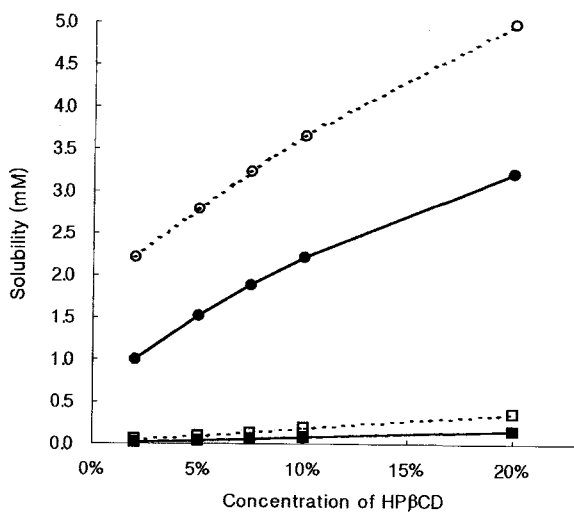


Figure 3-Effect of HP β CD concentration on the solubility of Piroxicam and Tenoxicam at pH 3.3 and pH 7.3. Key: ○; Tenoxicam at pH 7.3, ●; Piroxicam at pH 7.3, □; Tenoxicam at pH 3.3, ■; Piroxicam at pH 3.3.

Table I-Stability Constant and Partition Coefficient of Piroxicam and Tenoxicam

Parameters	Piroxicam		Tenoxicam	
	Ionized species	Unionized species	Ionized species	Unionized species
Stability constant (mM^{-1})	0.029	0.233	0.013	0.073
Partition coefficient	5.9	72.4	5.1	13.3

향도 나타나기 때문에 그 기울기가 pH 3.3보다 큰 것을 볼 수 있다. 이 직선의 식을 통하여 계산해 얻은 피록시캄과 테녹시캄의 해리형 및 비해리형의 포접복합체 형성상수와 옥탄올과 수용액에서의 분배 계수를 Table I에 나타내었다. 피록시캄과 테녹시캄의 해리형과 비해리형의 포접복합체 형성상수는 분배 계수에 비례하는 결과를 보여 주었다. 따라서 포접복합체의 형성은 지용성 약물에 국한되는 것은 아니나 분배계수에 따라 형성되는 정도가 결정되며 통상 분배계수가 큰 비해리형이 주로 포접화합물을 형성할 것이나 해리형도 농도가 높을 때는 상당량이 포접될 수 있다는 것을 나타내고 있다. 피록시캄의 해리형과 비해리형의 포접복합체 형성 속도 상수는 테녹시캄의 각각의 그것에 비해 높게 나타났다. 그러나 흥미로운 것은 해리형과 비해리형 모두에서 분배 계수가 커서 피록시캄이 HP β CD와 복합체 형성 능력이 더 뛰어나지만 pH 3.3과 7.3 모두에서 HP β CD의 농도가 증가함에 따라 테녹시캄의 용해도가 더욱 증가하는 것을 볼 수 있다. 이것은 식 (2), (3)에서 볼 수 있듯이 용해도 상승은 복합체 형성 상수와 해리형이나 비해리형의 용해도에 의해 결정되는데 일반적으로 $K_i[D_i]$ 와 $K_u[D_u]$ 는 1보다 훨씬 작으므로 용해도 증가는 복합체 형성 상수와 용해도의 곱에 비례하기 때문이다. 즉 포접복합체 형성 상수가 피록시캄이 2~3 배 크지만 해리형과 비해리형의 용해도는 테녹시캄이 각각 약 3배, 8배 더 크기 때문에 두 값을 곱하면 테녹시캄의 용해도 증가가 더 크게 나타날 것을 예상할 수 있다.

Figure 4는 pH 7.3에서 HP β CD의 농도가 10%일 때 피록시캄과 테녹시캄의 4종의 농도를 비교한 것이다. 앞에

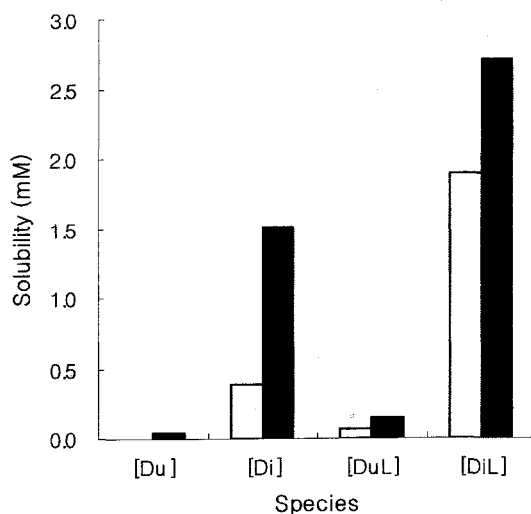


Figure 4-Concentration of various Piroxicam(□) and Tenoxicam (■) species at pH 7.3 in 10% HP β CD aqueous solution.

서 설명한 것과 마찬가지로 pH 7.3에서는 해리형이 비 해리형에 비해 농도가 훨씬 높기 때문에 $[D_uL]$ 보다 $[D_L]$ 이 용해도 상승에 기여하는 정도가 더 큰 것을 볼 수 있다.

결론적으로 테녹시캄과 피록시캄의 용해도는 pH와 포접 복합체의 병용에 의해 크게 상승시킬 수 있고 이때 이온화된 약물의 포접복합체의 용해도는 다른 3종의 용해도를 능가하여 전체 용해도 향상에 있어서 가장 크게 기여할 수 있는 중임을 보여 주었다. 또한 포접복합체에 의해 용해도를 증가시키는 연구에서 해리상수, 분배계수를 고려하여야 하며 이들에 관한 정보는 용해도 증가 정도를 예측하는데 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 말씀

이 논문은 1999년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) J.R. Moyano, M.J. Arias-Blanco, J.M. Gines and F. Giordano, Solid-state characterization and dissolution characteristics of gliclazide- β -cyclodextrin inclusion complexes, *Int. J. Pharm.*, **148**, 211-217 (1997).
- 2) T. Loftsson and M.E. Brewster, Pharmaceutical application of cyclodextrin: 1. Drug solubilization and stability, *J. Pharm. Sci.*, **85**, 1017-1025 (1996).
- 3) S. Keipert, J. Fedder, A. Bohm and B. Hanke, Interaction between cyclodextrins and pilocarpine - as an example of a hydrophilic drug, *Int. J. Pharm.*, **142**, 153-162 (1996).
- 4) P. Li, S.E. Tabibi and S.H. Yalkowsky, Combined effect of complexation and pH on solubilisation, *J. Pharm. Sci.*, **87**, 1535-1537 (1998).
- 5) R.M. Candless and S.H. Yalkowsky, Effect of hydroxypropyl- β -cyclodextrin and pH on the solubility of levemopamil hydrochloride, *J. Pharm. Sci.*, **87**, 1639-1642 (1998).