

이온토포레시스를 이용한 프로스타글란딘 E₁의 경피흡수

신동숙 · 오승열[†]

숙명여자대학교 약학대학
(1999년 5월 6일 접수)

Iontophoretic Delivery of Prostaglandin E₁

Dong-suk Shin and Seung-young Oh[†]

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea
(Received May 6, 1999)

ABSTRACT—We have studied the transdermal flux of prostaglandin E₁ (PGE₁) from a hydrogel patch through hairless mouse skin, to test the possibility of developing a transdermal delivery system. Karaya gum patch containing PGE₁ was prepared by casting method. PGE₁ was stable in the patch for 10 weeks. The effect of current application, enhancer (propylene glycol monolaurate : PGML), adhesive and patch thickness on the flux was studied using side-by-side diffusion cell. Passive flux of PGE₁ was negligible. Cathodal delivery increased the flux about 20 fold. As the concentrations of PGML increased, flux increased. When 5% PGML was used as the enhancer, maximum flux by cathodal iontophoresis was 55 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$. It increased about 2 folds to 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$, when the amount of PGML used was 9%. Large increase in flux and the decrease in time to reach maximum flux were observed when the skin was pretreated with neat PGML (maximum flux obtained was about 200 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$). Use of adhesive decreased the flux significantly. To the contrary of our expectation, increase in current density decreased the flux. These flux data together with the stability data indicate that, though the onset of sufficient delivery occur after 1-2 hours of application, therapeutic amount of PGE₁ can be delivered through skin using iontophoresis and penetration enhancer.

Keywords—Iontophoresis, Propylene glycol monolaurate, Stability, Prostaglandin E₁

Prostaglandin E₁(PGE₁)의 약리작용은 peripheral vasodilation과 platelet aggregating inhibition¹⁾을 들 수 있으며 주로 말초순환장애, 발기부전 치료제로 사용되어 왔다. PGE₁은 강한 혈관확장작용이 있어서 특히 발기부전치료 및 개선에 많이 응용되어 왔으며 현재 시판되고 있는 제품으로 발기부전 치료제로 사용되는 Upjohn사의 CaverjectTM 및 Vivus사의 Muse가 있다. Caverject는 약물을 직접 erectile tissue에 투여하는 intracavernous 주사제로 다른 투여 방법에 비해 현재 가장 확립된 발기부전 치료 방법이며 이러한 치료에 의해 약 30%의 환자들이 정상 발기기능을 회복했다는 보고가 있다.²⁾ 그러나 이 방법은 약물 투여 시 self-injection의 두려움과 통증 때문에 치료 환자의 50%가 치료를 포기하고 있다고 한다.³⁾ 또 주사에 의한 투여 시 자주 발생하는 부작용의 하나로 지속적인 발기를 들 수 있다. 한편 Vivus사의 Muse는 요도삽입제인데 이것도 역시 투여 시에 urethral burning pain과 dysuria(배뇨곤란)가 있어서 환자들이 사용하

기를 기피하고 있는 실정이다.⁴⁾ 이러한 단점을 극복하기 위해서는 경구투여나 경피흡수 제형과 같은 noninvasive한 투여방법의 개발이 필요하다. PGE₁의 경우 약물이 쉽게 dehydration되어 다른 유도체(PGA₁, PGB₁)로 변하기 때문에⁵⁾ 경구투여가 불가능하며 국소적인 약효가 요구되기 때문에 경피흡수 제형이 보다 적합한 제형으로 생각된다. 본 연구에서는 PGE₁이 피부를 통해 치료효과를 볼 수 있는 양이 투과될 수 있는지 그 가능성을 연구하였다. PGE₁ 패취는 karaya gum을 이용하여 만들었으며 피부투과 증진제와 이온토포레시스의 투과에 미치는 영향을 조사하였으며 패취 내 약물의 안정성에 대한 연구도 실시하였다.

실험방법

시약 및 기기

PGE₁은 미국 CASCADE사 제품을 구입하여 사용하였고, 패취의 매트릭스로 사용한 Karaya gum은 미국 Sigma사 제품을, 글리세린은 Yakuri Pure Chemical사 제품을 사용하였다. Enhancer로서 propylene glycol monolaurate(PGML,

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)710-9563, E-mail : syoh@sdic.sookmyung.ac.kr

Chem Service, U.S.A.)를 각각 구입하여 사용하였으며 buffer 제조에 HEPES(N-[2-hydroxy-ethyl]-piperazine-n'-12-ethane sulfonic acid)를 Aldrich사로부터 구입하여 사용하였다. 패취의 접착력을 증가시키기 위한 접착제 (ATP-X-983)는 (주)삼원(대구)으로부터 제공받아 사용하였다. Diffusion cell은 부피가 1 ml 되도록 제작하여 사용하였다(유일과학, 부산). Receptor 용액의 stirring 목적으로는 multi-stirrer(Variamag사, Electronicruhrer Poly 15)를 사용하였고 실험기간 중의 온도는 항온조절이 가능한 incubator (Jeio Tech, SI-900, 안산)를 사용하였다. DC power supply로는 PT70-10MDC(Power Tech사, 안산)를 사용하였다. Ag/AgCl 전극은 물리적 coating 또는 전기화학적 방법에 의해 제조되었다. Receptor 용액에 넣을 전극은 Ag wire를 AgCl액에 dipping 하여 coating하는 방법으로 제조하였으며 한편 패취에 이용될 전극은 은판(1 mm 두께)을 구입하여 2 cm×2 cm 크기로 자른 뒤 sand paper로 깨끗이 표면을 닦아내고 염산 용액 및 acetone을 이용해 씻은 다음 KCl 용액에서 제조하였다. Skin은 hairless mouse (female, 8-12주)의 whole skin을 사용하였으며 HPLC system^o으로는 Shimadzu CBM-10A system과 SIL-10A auto injector가 사용되었고, 칼럼으로는 Waters사의 μ Bondapak C₁₈ (3.9×300 mm)을 사용하였다.

약물 함유 패취의 제조

이온토포레시스시 donor phase로 사용될 패취는 karaya gum을 이용해 제조하였다. 먼저 PGE₁의 EtOH 용액에 glycerol, PGML, karaya gum, 접착제를 넣어서 잘 섞은 다음 이 혼합물을 평평한 polyester 필름위에 일정량 붓고 knife doctor를 이용하여 일정한 두께로 편 후 30°C 오븐에서 하루 동안 건조시켜 패취를 제조하였다. Punch를 이용하여 1 cm 직경의 원형으로 잘라내어 실험에 사용하였다.

약물의 안정성

패취를 30°C 오븐에 보관하면서 10주 동안 약물 농도 변화를 패취에서 약물을 추출하는 방법으로 연구하였다. 추출은 10 ml의 물에 일정 면적의 패취를 넣고 tip sonicator로 패취를 분쇄시키는 방법으로 실시하였다.

In vitro 약물투과

In vitro에서 패취로부터의 약물 방출은 passive와 이온토포레시스 약물투과실험을 실시하여 그 flux를 비교하였고, 또한 PGML의 농도(5%, 7%, 9%), 전류의 세기, 패취의 두께(0.15 mm와 1 mm) 등을 변화시키며 약물의 피부투과에 미치는 영향을 조사하였다. 모든 이온토포레시스 실험은 음극

을 donor층인 patch에 연결(cathodal delivery)하여 실시하였다. 한편 접착력을 증가시키기 위해 사용된 아크릴계 접착제의 flux에 미치는 영향도 연구하였다. Side-by-side diffusion cell에 hairless mouse의 피부를 각질층이 바깥을 향하게 놓고 그 위에 패취를 놓았다. 다시 그 위에 판상의 전극을 놓고 전체를 테이프로 고정시킨 다음 음극을 패취 쪽에 연결하고 양극을 receptor chamber(pH 7.4 HEPES 용액)에 위치한 전극에 연결하여 이온토포레시스를 실시하였다. 일정한 시간마다 sampling을 하였으며 receptor chamber에 있는 액을 모두 취하고 새 용액으로 바꿨다. 계산된 flux 값은 두 sampling time의 중간 시간의 flux로서 그래프에 나타내었다. 모든 이온토포레시스 실험은 10시간 동안만 전류를 적용하였다. 모든 data는 평균값±표준편차로 하여 나타내었다. 필요할 경우 tail은 단측분포로 검정의 종류는 쌍으로 지정하여 Student's t-test를 실시하였다. P 값이 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의성 있는 차이가 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

약물의 안정성

Figure 1은 패취 내에서의 약물의 안정성을 보여주고 있는데 10주까지 패취 내의 약물농도는 일정하게 유지되었다. 이 결과는 약물이 물과의 접촉이 최소화된 패취 내(glycerin, karaya gum 및 PGML과 같은 유기물질 환경)에서 매우 안정함을 보여주고 있다.

In vitro 약물투과

이온토포레시스 vs passive flux

5% PGML이 함유된 패취를 이용하여 단순확산(passive)

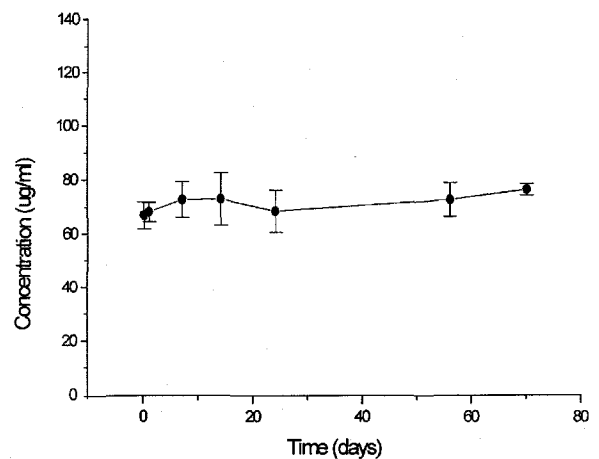


Figure 1—Stability of PGE₁ in the patch system at 30°C for 10 weeks. Data represents mean ± S.D. (n=6).

및 이온토포레시스 투과실험을 실시하고 그 flux를 비교하였는데 cathodal delivery를 하였을 때에 passive보다 큰 flux가 관찰되었다(Figure 2). Cathodal delivery 경우에 flux는 약 3시간 후에 최대값(약 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$)에 도달하였으며 전류를 끊은 후에도 5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ 이상의 flux를 보였다. 한가지 유의해야 할 점은 패취 내에는 유기물(karaya gum, glycerin, PGML) 만이 들어있어 약물은 전하를 띄지 않기 때문에 이온토포레시스 시 약물의 flux 증가는 주로 피부의 변화 또는 손상에 의한 것이라고 볼 수 있다. 한편 passive flux는 약 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ 또는 그 이하로 매우 낮았다.

패취 두께의 영향

두께가 0.15 mm와 1 mm인 패취 두 가지를 만들어서 약물의 flux에 미치는 영향을 조사하였는데 두께가 얇은 패취에서의 flux가 4시간 까지는 더 우세하였으나 6시간 이후 부터는 1 mm 두께의 패취로부터의 flux가 더 큰 결과를 나타냈다(Figure 3). 이는 같은 용량의 약물을 함유하는 경우 패취의 두께가 얇을수록 농도구배가 크기 때문에 초반에 신속히 피부로 투과될 수 있었다고 판단되며 6 시간 이후에 1 mm 패취로부터의 flux가 더 크게 나타난 것은 패취에 5%(w/w)으로 함유되어 있는 PGML의 절대량이 1 mm 패취에 더 많이 함유되어 있고 따라서 더 많은 양의 PGML이 피부로 확산되어 피부투과도를 증가시키기 때문이라고 사려 된다.

Enhancer의 영향

Figure 4는 enhancer인 PGML을 5%, 7% 및 9% 함유한 패취로부터의 약물의 flux를 보여준다. PGML의 농도가 증가할수록 flux가 증가하였다. 전류 세기를 0.4 mA/cm²로 cathodal delivery를 실시하였을 때 5% 함유 패취인 경우

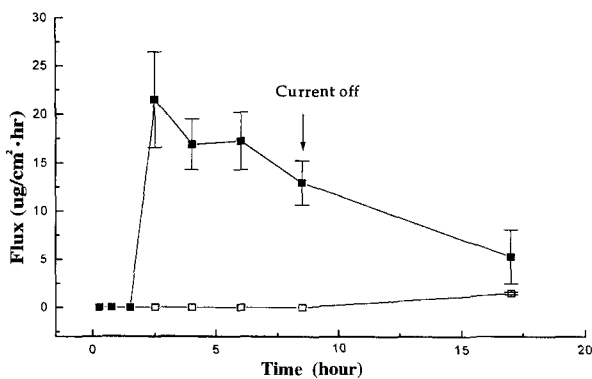


Figure 2—Effect of iontophoresis on the transport from patch containing 1 mg PGE₁ through the hairless mouse skin at 36.5°C [enhancer : 5%(w/w) PGML, thickness : 0.15 mm, current density : 0.4 mA/cm²]. Data represents mean \pm S.D. (n=6). Iontophoretic delivery was significantly different from passive delivery (p < 0.05). Key : \square ; passive, \blacksquare ; iontophoresis.

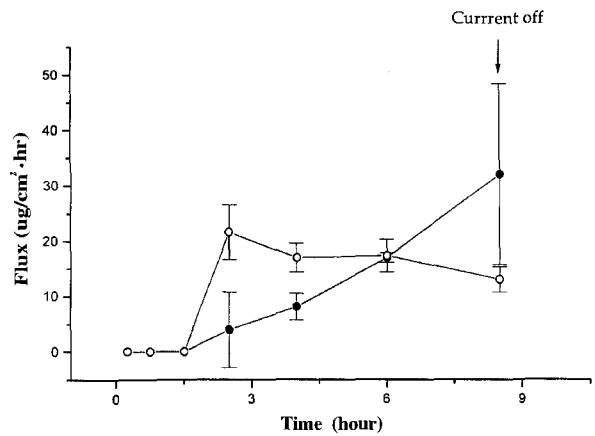


Figure 3—Effect of patch thickness on the transport from patch containing 1 mg PGE₁ through the hairless mouse skin at 36.5°C [enhancer : 5%(w/w) PGML]. Data represents mean \pm S.D. (n=6). Key : \bullet ; 1 mm, \circ ; 0.15 mm.

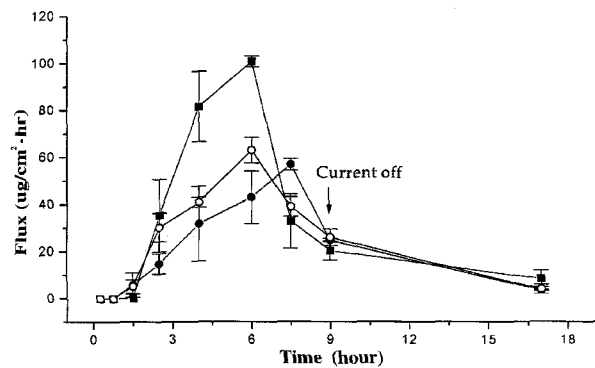


Figure 4—Effect of the amount of PGML on the transport from patch containing 1 mg PGE₁ through the hairless mouse skin at 36.5°C [current density : 0.4 mA/cm², thickness : 0.2 mm]. Data represents mean \pm S.D. (n=6). Flux from patch containing 9% PGML was significantly different from that containing 5% and 7% (p < 0.05). Key : \bullet ; 5%, \circ ; 7%, \blacksquare ; 9%.

maximum flux가 약 7시간 후에 55 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ 로 나타났으며 9% 패취인 경우에는 maximum flux가 6시간 후에 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ 이 되었다. 이 결과는 투과증진제를 약 2배 증가시켰을 때 maximum flux도 약 2배 증가했음을 보여주고 있다. Figure 5는 피부에 PGML을 neat 상태로 일정시간 처리(도포)한 후 씻어내고 flux 실험을 하였을 때의 결과이다. Control(no treatment)의 경우에 비해 PGML 전처처리 시간이 증가할수록 더 큰 flux를 보였고 maximum flux가 나타나는 시간도 짧아짐을 알 수 있다. 이상의 결과는 피부를 neat(100%) 상태로 처리하였을 때에 훨씬 효과적으로 피부의 투과도를 변화시킬 수 있음을 보여준다.

접착제의 영향

패취제조 시 접착제를 사용하여 패취의 접착력을 높일 때

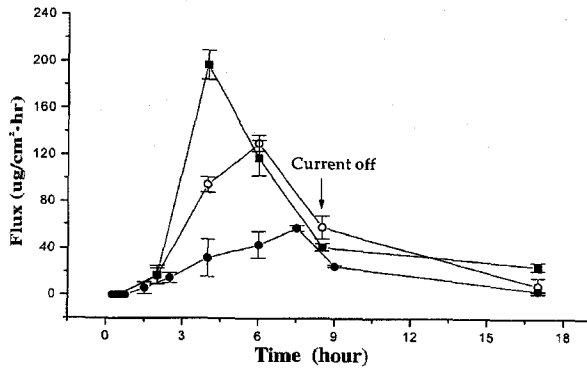


Figure 5—Effect of PGML pretreatment on the transport from patch containing 1 mg PGE₁ through the hairless mouse skin at 36.5°C [enhancer : 5%(w/w) PGML, current density : 0.4 mA/cm², thickness : 0.2 mm]. Data represents mean ± S.D. (n=6). Key : ● ; no pretreatment, ○ ; 0.5 hour pretreatment, ■ ; 1.0 hour pretreatment.

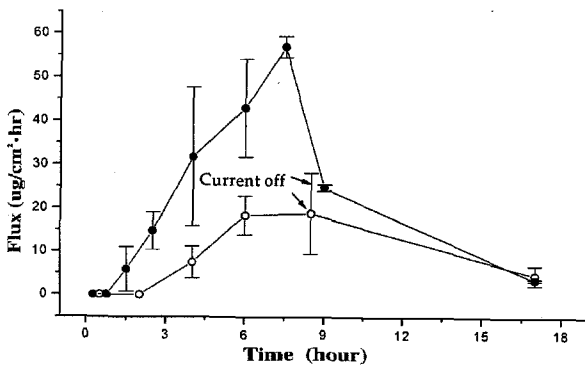


Figure 6—Effect of adhesives on the transport from patch containing 1 mg PGE₁ through the hairless mouse skin at 36.5°C [enhancer : 5%(w/w) PGML, current density : 0.4 mA/cm², thickness : 0.2 mm]. Data represents mean ± S.D. (n=4). Flux from patch containing adhesive was significantly different from that containing no adhesive (p<0.05). Key : ● ; no adhesive, ○ ; adhesive.

약물의 투과가 어떻게 변화되는지에 대해 연구를 하였다 (Figure 6). 접착제 첨가에 의해서 flux는 약 50% 정도 감소하였다. 한편 접착제의 사용은 karaya gum 그 자체의 접착력에 비해 접착력을 다소 증가시켰으나, 패취를 제거하였을 때 피부에 접착제가 상당량이 남아 있는 단점을 보였다.

전류세기의 영향

전류의 세기(current density)를 0.2 mA/cm², 0.4 mA/cm², 0.6 mA/cm²로 증가시켰더니 flux는 오히려 감소하였다 (Figure 7). 이 결과는 예상치 못한 것으로서 다음의 두가지 이유 때문이라고 사려된다. 그 첫 번째 이유는 electro-osmotic flow의 방향이 anode에서 cathode 쪽이므로 본 실험에서와 같이 cathodal delivery를 할 경우 electro-osmotic flow가 약물의 flux를 방해하는 효과를 나타내기 때문이라고 생각되며 두 번째 이유로 생각되는 것은 패취 내의 물 함량

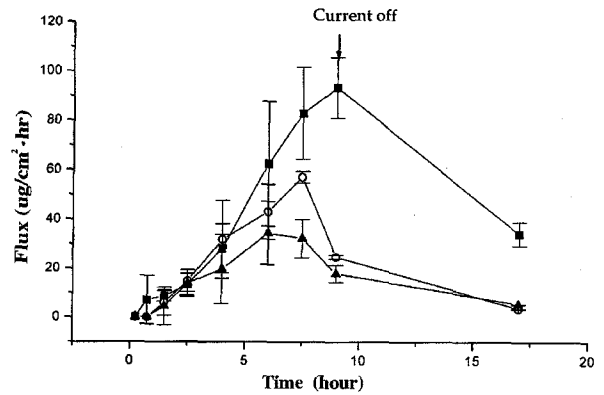


Figure 7—Effect of current density on the transport of PGE₁ from patch containing 1 mg PGE₁ at 36.5°C [enhancer : at 5%(w/w) PGML, thickness : 0.2 mm]. Data represents mean ± S.D. (n=7). Flux at 0.2 mA/cm² was significantly different from that at 0.4 and 0.6 mA/cm² (p<0.05). Flux at 0.4 mA/cm² was significantly different from that at 0.6 mA/cm² (p<0.05). Key : ▲ ; 0.6 mA/cm², ○ ; 0.4 mA/cm², ■ ; 0.2 mA/cm².

증가에 따른 피부로의 약물 partition 감소 및 karaya gum의 고형화에 따른 약물의 diffusivity의 감소라고 사려된다.

이상의 결과들은 가장 적절한 약물투여조건을 선택하는데 중요한 자료를 제공하고 있다. 먼저 전류의 세기는 너무 크지 않아야 하는데 이는 electro-osmotic effect에 의해 전류의 세기가 클수록 flux가 낮아져 불리하기 때문이다. 피부투과증진제로 사용된 PGML은 사용 농도가 높을 수록 flux의 증가가 매우 크게 나타났으므로 피부 irritation 문제를 일으키지 않는 범위에서 높은 농도를 사용하는 것이 유리하다고 판단된다. 한편 PGE₁은 발기부전 치료의 용도로 사용될 때 그 therapeutic doses가 1회 주사로서 5-50 μg/ml(보통은 10-20 μg/ml)⁹⁾로 알려져 있는데 본 실험의 결과는 전류 및 PGML을 사용하여 약 100 μg/cm²·hr 이상의 flux를 얻을 수 있으며 enhancer 전처리 시 200 μg/cm²·hr 까지의 flux를 얻을 수 있음을 보여준다. 이러한 flux에 의해서는 약물농도가 therapeutic level에 도달할 수 있을 것으로 예상되며 이에 대해 보다 자세한 약동력학적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

결 론

본 연구에서는 PGE₁을 함유하는 karaya gum 패취를 제조하여 패취 내 약물의 안정성, 피부투과증진제, 전류세기, 접착제 및 패취두께가 flux에 미치는 영향을 연구하였다. 연구 결과 피부를 통한 약물의 투과가 전류세기 및 피부투과증진제를 잘 선택하였을 때 100-200 μg/cm²·hr의 큰 flux를 얻을 수 있음을 알았으며 약물은 패취 내에서 안정함을

알았다. 본 연구 결과는 PGE₁이 경피제제로 개발될 수 있는 가능성이 있음을 보여주고 있다.

감사의 말씀

이 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업(HMP-97-D-2-0008) 연구비로 수행되었습니다.

문헌

- 1) M. Wiese, H.P Cordes, H. Chi, J.K. Seydel, T. Backensfel and B.W. Muller, Interaction of prostaglandin E₁ with α -cyclodextrin in aqueous systems : stability of the inclusion complex, *American Pharmaceutical Association*, **80**, 153-156 (1991).
- 2) H. Gunjior, I. Ono, T. Tateshita and F. Kaneko, Clinical effectiveness of ointment containing prostaglandin E₁ for wounds, *Burns*, **22**, 399 (1996).
- 3) E.D. Kim and K. Mcvary, Topical prostaglandin E₁ for a treatment of erectile dysfunction, *J. Urology*, **153**, 1828-1830 (1995).
- 4) H.S. Chiang, Y.H. Kao and M.T. Sheu, Papaverin and prostaglandin E₁ gel application for impotence, *Ann. Acad. Med.*, **24**, 767-769 (1995).
- 5) N.H. Shulman and R.K. Fyfe, Shelf-life determination of PGE₁ injections, *J. Clin. Pharm. & Therapeutics*, **20**, 41-44 (1995).
- 6) K. Yamamura, J. Yamada and T. Yotsuyanagi, High-performance liquid chromatographic assay for prostaglandin E₁ in various ointment vehicles : separation and stability testing, *J. Chromatogr.*, **303**, 165-172 (1984).
- 7) S. Santoyo, A. Arellano, P. Ygartua and C. Martin, Penetration enhancer effect on the *in vitro* percutaneous absorption of piroxicam through rat skin, *Int. J. Pharm.*, **117**, 219-224 (1995).
- 8) H. Oishi, Y. Ushio, G. Naraharak and M. Atakehare, Effect of vehicles on percutaneous absorption I : characterization of oily vehicles by percutaneous absorption and transepidermal water loss test, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 1765-1773 (1976).
- 9) R. Gatti, R. Gotti, V. Cavrini, M. Soli, A. Bertaccini and F. Carparelli, Stability study of prostaglandin E₁ in physiological solution by chromatography(HPLC), *Int. J. Pharm.*, **115**, 113-117 (1995).