

지방산, 지방 알코올 및 프로필렌글리콜이 클렌부테롤의 경피투과에 미치는 영향

이영대 · 권기철 · 정시영 · 이종달 · 용철순†

영남대학교 약학대학
(1999년 9월 16일 접수)

The Effect of Fatty Acids, Fatty Alcohols and Propylene Glycol on the Penetration of Clenbuterol through Hairless Mouse Skin

Yeong-Dae Lee, Qi-Zhe Quan, Si-Young Jung, Jong-Dal Rhee and Chul Soon Yong†

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea
(Received September 16, 1999)

ABSTRACT—Clenbuterol, a selective β_2 -adrenergic receptor stimulant, has been introduced as a potent bronchodilator for patients with bronchial asthma, chronic bronchitis and pulmonary emphysema. For the purpose of developing a transdermal preparation for clenbuterol, we attempted to select an optimal solvent system and permeation enhancer among fatty acids and fatty alcohols which are known to accelerate the penetration of various drugs in permeation experiments using hairless mouse skin and Franz diffusion cell. Apparent partition coefficient of clenbuterol was increased as pH of buffer solution was increased and solubility of clenbuterol was increased as the percent of propylene glycol(PG) in buffer solution(pH 10) was increased. Permeability of clenbuterol from different buffer(pH 10)/PG solvent mixtures was decreased as the percent of PG in pH 10 buffer solution was increased and among the various enhancers studied, lauryl alcohol was found to be the most effective enhancer, increasing the permeability of clenbuterol approximately 76-fold compared with control. Lauryl alcohol(0~2%) enhanced the permeability of clenbuterol concentration-dependently. In this study, the optimal solvent system for the penetration of clenbuterol was found to be 50/50 buffer(pH 10)/PG solvent mixture containing 2% lauryl alcohol.

Keywords—Clenbuterol, Enhancer, Transdermal preparation, Partition coefficient, Permeability

약물의 투여방법으로 가장 보편적으로 사용되는 경구투여는 체내로 전달된 약물이 위장관 및 간 등에서 초회통과 효과에 의하여 상당부분이 분해될 가능성이 있다. 그러므로 일정한 약효를 얻기 위하여 과다한 양의 약물투여가 필요하고, 약물의 혈중 농도가 시간에 따라 증가하였다가 감소하며, 약물의 농도가 최소 유효 농도 이하로 떨어지게 되면 약효를 유지시키기 위한 약물 투여 횟수가 증가하게 된다. 이러한 반복적인 투여는 독성 농도 이상과 최소 유효농도 이하를 오르내리게 되고 특히 이 두 level의 농도 차이가 작을 때는 치료 유효 농도 범위 안에 혈중농도를 유지하기 어렵게 되며 약물의 독성이 심할 경우 아무리 좋은 약물이라도 실질적인 임상적 사용이 불가능할 수 있다. 이러한 여러 가지 문제점을 해결하기 위해서는 약물을 체내에 효과적으로 공급하고 부작용을 최소화시키기 위한 새로운 제형의 선택과 전달기구의 개발이 필요하다.¹⁾

기관지 천식, 만성 폐쇄성 호흡기 질환에 사용되는 클렌부테롤은 β_2 -adrenergic receptor에 선택성이 강하여 상대적으로 다른 약물보다 심장에 대한 부작용이 작다. 또한 클렌부테롤은 일일 경구투여량이 20-80 μg 이고 약물의 치료효과를 나타내는 농도의 범위가 좁아서 부작용을 나타내기 쉬우므로 적절한 혈중농도를 지속적으로 유지시키는 것이 필요한 경피흡수 패취제에 적합한 약동력학적 특성을 갖고 있다.²⁾ 특히 천식환자의 경우 야간의 천식발작을 예방하기 위해서는 지속적으로 약물의 혈중농도를 유지시키는 것이 필요하다. 이러한 점에서 볼 때, 클렌부테롤을 경피흡수제제로 개발할 경우 경구투여시 나타나는 혈중 약물농도의 변화를 방지하고 지속적으로 적절한 혈중 농도를 유지시킴으로써 약물의 독성을 최소화하고 치료효과를 극대화 할 수 있다. 또한 소아의 경우 경구용 제제의 전신적 부작용을 경감시키기 위하여 최근 개발된 metered dose inhaler의 사용이 매우 어렵기 때문에 환자의 약물복용 순응도를 높일 수 있고, 장기간의 투여에 적합하며 혈중 농도를 조절하기 쉬운 클렌부테롤의 경피흡수제제 개발이 절실히 필요한 실정이다.³⁻⁵⁾ 따

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 053)810-2812, E-mail : csyong@ynucc.yeungnam.ac.kr

라서 본 실험에서는 클렌부테롤의 경피흡수제제의 개발을 목적으로 피부투과도를 조사하고, 약물의 용해도 및 피부/용매 분배계수를 감안한 용매조성의 최적화를 기하고자 하였다. 이러한 경피흡수제제의 개발에 있어서, 약물은 주로 피부각질층 통과시 intercellular 또는 intracellular pathway를 이용한다고 알려져 있으며, pore pathway는 피부에서 차지하는 분획이 매우 작아 극성이 높은 약물의 투과경로로 작용한다.⁶⁾ 약물의 경피흡수제제 개발시 피부투과를 촉진하기 위하여 적절한 용매조성을 선택할 경우 목표로 하는 피부투과도를 얻을 수 있는 가능성은 있다. 그러나 피부의 낮은 투과도 때문에 피부투과 촉진제의 역할이 상당히 중요하며, 그 중 장쇄 지방산과 지방산 알콜류는 propylene glycol(PG)과 같은 적당한 용매와 함께 사용하면 여러 가지 약물의 피부투과를 촉진하는 것으로 알려져 있다.⁷⁻⁹⁾ 특히, Aungst 등¹⁰⁾은 탄소수 8-18의 지방산 알콜이 나록손의 인체 피부투과에 미치는 영향을 검토하여 최대의 피부투과는 탄소수가 12인 lauryl alcohol을 사용할 경우 나타났음을 보고하였다.

본 연구에서도 클렌부테롤의 피부투과를 위한 용매의 최적화와 더불어 피부 투과에 미치는 지방산과 지방산 알콜류의 종류와 농도에 따른 피부투과도를 Franz diffusion cell과 hairless mouse 피부를 이용하여 측정하고 평가하여 클렌부테롤의 경피흡수제제 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

실험방법

시약 및 기기

본 실험에 사용한 약물인 클렌부테롤(Mw=277.18) 및 피부투과 촉진제인 capric acid, lauric acid, myristic acid, stearic acid, oleic acid, lauryl alcohol, oleyl alcohol 등은 Sigma사로부터 구입하였고, octanol, triethylamine, phosphoric acid, boric acid는 Yakuri Pure Chemicals Co. Ltd.사로부터, propylene glycol(PG), sodium azide, acetic acid는 Junsei Chemical Co. Ltd.사로부터, acetonitrile은 Riedel-deHaen사로부터, sodium hydroxide는 Kanto Chemical Co. Inc.로부터 구입하였으며, 이외의 모든 시약은 특급 혹은 일급을 사용하였고, 실험에 사용한 모든 완충액은 Milli Q (Millipore Co., U.S.A)에 18 M Ω -cm로 통과시켜 제조한 증류수를 사용하여 제조하였다. 본 실험에 사용한 HPLC는 Hitachi사 (Japan)의 것을 사용하였다. 그 외 기기와 기구로는 자석교반기(Coming, USA), sonicator (Branson, USA), aspirator (Eyela, Japan), 미량원심분리기(Eppendorf 5415C, Germany), shaking water bath (KMC-1205 SW1, Vision Co., Korea), pH meter (Orion Research Inc.,

USA), immersion circulator (Jeio Tech Co. Ltd., Korea) 및 Franz diffusion cell 등을 사용하였다.

실험 동물

실험에 사용한 hairless mouse(SKH-1, USA)는 6~8주령으로, 피부에 전혀 상처나 긁힌 자국이 없는 것으로 선택하였으며 경추탈구 방법에 의하여 고통 없이 죽인 다음 전체 피부를 벗긴 후, 피하지방을 조심스럽게 제거하여 사용할 때까지 잘 펴서 -70°C에서 보관하며, 실험 전에 해동하여 사용하였다.¹¹⁾

클렌부테롤의 정량

클렌부테롤의 농도는 Botterblom¹²⁾의 방법을 변형시킨 HPLC 방법을 사용하여 정량하였으며, 시료를 Millipore filter로 여과한 후 HPLC에 주입하였다. HPLC는 Hitachi 7000 series로 용매 펌프 (Hitachi, Model L-7100), column (Inertsil ODS-2 column : 5 μ m particle size, 4.6 \times 150 mm) 및 integrator(Hitachi, Model D-2500)로 구성되어 있으며 주입기는 manual injector (Rheodyne, Model 7450)를 사용하였고, 흡광도는 UV/Visible detector (Photodiode array detector Model L-7450)를 사용하여 215 nm에서 검출하였다. 이동상으로는 acetonitrile/phosphate buffer(0.05M, pH 3.0) =20/80인 용매를 사용하였고, 유속은 1.2 ml/min이었다.

유수분배계수 측정

0.1M Britton-Robinson 완충액 (pH 2~12)과 octanol을 각각 500 ml씩 separate funnel에서 혼합하여 하루동안 방치하여 상호 포화시켰다. 완충액과 octanol층을 분리하여 완충액에 클렌부테롤 적당량(5 mg)을 녹인 다음, conical tube에 완충액과 octanol의 비율을 1:9, 3:7, 5:5, 7:3, 및 9:1로 총량이 20 ml되게 섞어서 하루동안 진탕하였다. 4000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 octanol층을 제거한 다음 완충액에 녹아있는 약물의 양을 정량하고 완충액에서 octanol로 분배된 양을 계산하여 겉보기 유수분배계수를 측정하였다.¹³⁾

기체에 대한 클렌부테롤의 용해도 측정

약물의 피부투과에 있어서 기체에 대한 약물의 용해도가 중요한 인자로 작용하므로 사용하고자 하는 기체에 대한 클렌부테롤의 용해도를 측정하였다. 기체로는 외용제제에 안전하게 사용할 수 있다고 알려진 PG와 완충용액의 혼합액을 사용하였다. 1.5 ml eppendorf tube에 100% 완충액(pH 10)과 완충액대 PG 비율을 각각 9:1(10% PG), 8:2(20% PG),

7:3(30% PG), 6:4(40% PG), 5:5(50% PG)로 서로 다른 비율의 용매 혼합액 1 ml를 넣은 다음, 과량의 클렌부테롤을 넣어 25°C 항온조에서 72시간 동안 45 rpm에서 진탕하면서 방치하였다. 4000 rpm에서 5분간 원심분리한 후, 상정액을 Teflon filter(0.22 m, Micron Separation Inc., Westboro, MO)로 여과하여 전술한 HPLC 분석에서 사용한 이동상으로 적당히 희석한 다음 HPLC로 정량하였다.

기제 조성에 따른 피부투과 실험

기제 조성에 따른 피부투과 실험은 혼합비율을 달리한 기제의 혼합물에 클렌부테롤을 포화시켜 실험에 사용하여 각 기제가 약물의 피부투과도에 미치는 영향을 비교 분석한다. 실험전에 동결되어 있는 hairless mouse 피부를 상온에서 서서히 녹여 Franz diffusion cell의 donor compartment와 receptor compartment 사이에 끼우고 피부의 표면은 실온에 노출시켰다. Receptor compartment에는 pH 7.4 인산염 완충액(phosphate buffered saline, PBS)으로 채웠으며 600 rpm정도로 계속 교반하면서 온도는 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 를 유지하였다. Receptor compartment와 접촉하는 피부의 면적은 2.01 cm^2 이었고 receptor compartment의 용량은 11 ml이었다.¹⁴⁾ 100% 완충액(pH 10)과 100% PG, 완충액대 PG 비율을 각각 9:1(10% PG), 8:2(20% PG), 7:3(30% PG), 6:4(40% PG), 5:5(50% PG)로 한 서로 다른 비율의 기제 혼합액 1 ml에 5 mg의 클렌부테롤을 녹여 donor compartment의 피부표면에 적용한 후 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24시간째에 0.2 ml의 receptor compartment의 용액을 채취하였고, 즉시 동량의 신선한 인산염 완충액으로 보충하였다. 채취시료의 클렌부테롤의 농도는 HPLC를 사용하여 정량하였으며, 각 실험을 세 번 이상 반복하였다.

피부투과 촉진제의 종류에 따른 피부투과 실험

전술한 완충액에 대한 PG양에 따른 피부투과 실험에서와 같은 방법으로 Franz diffusion cell에 hairless mouse 피부를 장치한 다음, 완충액대 PG 비율을 5:5(50% PG)로 한 용매 1 ml에 피부투과 촉진제로 지방산류인 capric acid, lauric acid, myristic acid, stearic acid, oleic acid와 지방산 알콜류인 lauryl alcohol, oleyl alcohol을 각각 1% 녹인 다음, 5 mg의 클렌부테롤을 녹여 donor compartment의 피부표면에 적용한 후 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24시간째에 0.2 ml의 receptor compartment의 용액을 채취하였고, 즉시 동량의 신선한 인산염 완충액으로 보충하였다. 채취시료의 클렌부테롤의 농도는 전술한 조건의 HPLC 방법을 사용하여 정량하였으며, 각 실험을 세 번 이

상 반복하였다.

Lauryl alcohol의 농도에 따른 피부투과 실험

전술한 방법으로 Franz diffusion cell에 hairless mouse 피부를 장치한 다음, 완충액대 PG 비율을 5:5(50% PG)로 한 용매 1 ml에 피부투과 촉진제로 lauryl alcohol을 각각 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 5%로 농도별로 다르게 하여 5 mg의 클렌부테롤을 녹여 donor compartment의 피부표면에 적용한 후 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24시간째에 0.2 ml의 receptor compartment의 용액을 채취하였고, 즉시 동량의 신선한 인산염 완충액으로 보충하였다. 채취시료의 클렌부테롤 농도는 HPLC를 사용하여 정량하였다. HPLC 조건은 앞서 사용한 조건과 동일한 조건으로 하였다. 각 실험을 세 번 이상 반복하였다.

Lauryl alcohol을 함유한 용매 조성에 따른 피부투과 실험

전술한 완충액에 대한 PG양에 따른 피부투과 실험에서 사용한 용매 중 100% 완충액(pH 10), 100% PG와 완충액대 PG비율이 8:2(20% PG), 5:5(50% PG)인 용매를 선택해 용액 1 ml에 각각 2% lauryl alcohol을 녹인 다음 5 mg의 클렌부테롤을 녹여 donor compartment의 피부표면에 적용한 후 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24시간째에 0.2 ml의 receptor compartment의 용액을 채취하였고, 즉시 동량의 신선한 인산염 완충액으로 보충하였다. 채취시료의 클렌부테롤 농도는 전술한 HPLC 방법으로 정량하였다.

경피 투과 자료 분석

클렌부테롤이 약효를 발현하기 위하여 경피투과 후 흡수되어 적절한 범위의 혈중농도를 지속적으로 유지하는 것이 필요하다. 단위 면적당 투과된 클렌부테롤의 축적량을 시간에 대하여 plotting한 후 직선성을 나타내는 부위의 기울기로 부터 평형상태에서의 flux를 계산하였다. Lag time (t_{LAG})은 직선이 x축을 통과하는 시간으로부터 구하였다. 기제 및 피부투과 촉진제의 효과는 평형상태에서의 flux 및 투과계수 등을 다음 식으로 계산하여 비교 분석하였다.¹⁵⁾

$$J_{ss} = \frac{1}{S} \left(\frac{dQ}{dt} \right)_{ss} = K_p C_d$$

J_{ss} 는 평형상태에서의 flux, t_{LAG} 는 lag time, S는 투과가 일어나는 면적, $\left(\frac{dQ}{dt} \right)_{ss}$ 는 평형상태에서 피부를 통과하는 클렌부테롤의 양을 시간^{ss}에 대하여 plotting하여 얻은 기울기, C_d 는 클렌부테롤의 기제에서의 포화농도, 그리고 K_p 는 투과계수를 나타낸다.

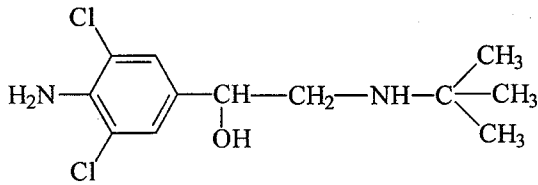


Figure 1-The structure of clenbuterol.

통계처리

Student's t test를 이용하여 기제의 조성 및 피부투과 촉진제의 농도와 종류가 클렌부테롤의 피부투과도에 미치는 영향의 차이를 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

본 실험에서는 클렌부테롤의 경피흡수제제의 개발을 목적으로 클렌부테롤의 피부투과도에 관한 자료를 얻고자 하였으며 클렌부테롤의 피부투과도를 개선하는 방법으로 기제 및 피부투과 촉진제의 영향을 구명하고자 하였다.¹⁶⁻¹⁹⁾

경피흡수제제를 개발하기 위해서는 적절한 기제와 피부투과 촉진제를 선정하는 것이 필요하다. 기제의 일차적 선택은 대상 약물의 용해도에 의존하나 그 최종적 선택은 피부 투과시험 결과에 따라 결정하여야 한다. 클렌부테롤에 대한 기제로서의 가능성을 검토하기 위하여 PG와 완충액과의 혼합물을 이용하여 클렌부테롤의 투과도를 측정하여 최적 기제에 대한 기본자료로 활용할 수 있다. 경피흡수제제의 개발에 있어서, 약물이 소수성인 피부각질층의 다공성 경로를 투과하는 과정이 피부를 통한 흡수의 율속단계로 작용하므로,⁶⁾ 기제조성의 적절한 선택만으로도 목표로 하는 피부투과도를 얻을 수 있는 가능성은 있다. 그러나 피부 본연의 낮은 투과도 때문에 피부투과 촉진제의 역할이 상당히 중요하며, 그 중 장쇄 지방산과 지방산 알콜류는 PG와 같은 적당한 용매와 함께 사용하면 여러 가지 약물의 피부 투과를 촉진하는 것으로 알려져 있다.⁷⁻⁹⁾ 피부투과 촉진제의 활성도는 기제의 종류에 따라 달라지므로 기제가 결정된 후에 피부투과 촉진제가 선정되어야 한다. 그러므로 본 연구에서도 클렌부테롤에 대해 피부투과도를 가장 높게 나타내는 최적의 기제를 선정할 다음 피부투과 촉진제인 장쇄 지방산과 지방산 알콜류의 종류와 농도에 따른 피부투과도를 Franz diffusion cell과 hairless mouse 피부를 이용하여 약물의 피부투과도를 연구하고 결과를 비교 평가하여 최종적인 제품화에 활용하고자 하였다.

본 연구의 최종 목표인 클렌부테롤의 경피흡수제형을 개발하기 위하여 기본적인 선행단계로 formulation의 일환인 다양한 조성의 기제가 클렌부테롤의 피부투과에 미치는 정

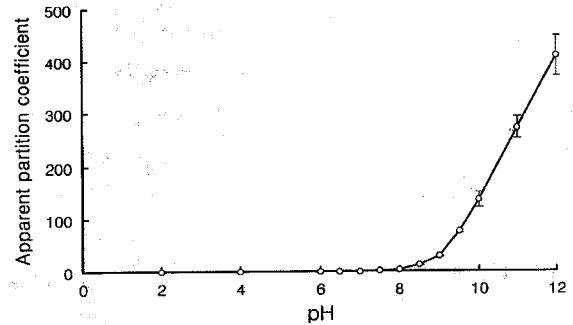


Figure 2-Apparent partition coefficient profile of clenbuterol as a function of pH.

도를 측정하여 기제의 작용기전을 구명하고 최적의 기제를 선택한 후 다양한 피부투과 촉진제를 가하여 피부투과의 상승작용을 검토하여 최적의 기제와 피부투과 촉진제의 조합을 얻으며, 클렌부테롤의 기제에 대한 용해도 및 피부/기제 분배계수를 감안한 기제조성의 최적화를 기하고자 한다.

유수분배계수

전술한 방법에 의해 겉보기 유수분배계수를 측정한 결과를 Figure 2에 나타내었다. 그림에서 보는바 같이 pH가 8 이상으로 증가함에 따라 급격히 유수분배계수가 증가하였으며, 이는 pH가 증가함에 따라 pKa 값이 9.58인 클렌부테롤의 neutral form으로 존재하는 양이 증가하는 사실과 일치한다. pH 8, 9, 10, 11 및 12에서의 유수분배계수는 4.09, 28.30, 135.88, 272.47 및 408.78을 각각 나타내었다. 이러한 결과에 의하여 이후의 실험에서는 pH 10인 완충액을 사용하여 기제의 조성을 조절하였다.

용해도

완충액(pH 10)내의 PG의 함량을 변화시키면서 클렌부테롤의 용해도를 측정한 결과를 Figure 3에 나타내었다. 완충

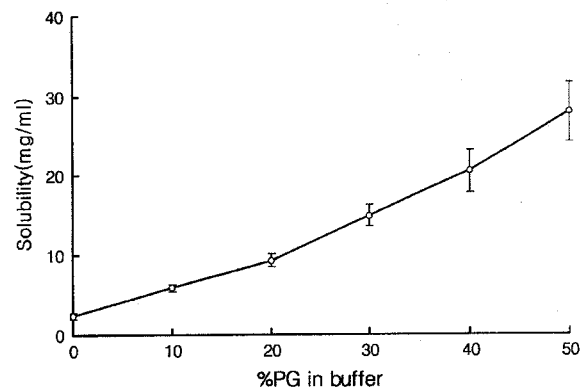


Figure 3-Solubility profile of clenbuterol in different buffer(pH 10)/PG solvent mixtures.

액만을 사용할 경우 용해도는 2.40 mg/ml을 나타내었으나 PG의 비율을 50%까지 증가시킬 경우 용해도는 32.93 mg/ml로 증가하였다.

용매 조성에 따른 피부투과

일반적으로 유수분배계수가 크면 피부투과도가 증가하지만, 반면 용해도는 감소하므로 본 실험에서는 적당한 유수분배계수를 갖는 용매로 pH가 10인 완충액을 선택하였다. 그러나 용해도가 낮아 용해도를 증가시킬 목적으로 완충액에 PG의 비율을 각각 0, 10, 20, 30, 40, 50, 100%로 달리하여 용해도를 높여서 피부투과도를 측정하였다. 완충액에 대한 PG의 비율에 따른 피부투과도 실험의 결과를 Figure 4와 Table I에 나타내었다. Table I에서 보듯이 PG의 양이 증가할수록 용해도는 증가하였으나 피부투과도는 감소함을 알 수 있었다. PG를 포함하지 않은 100% 완충액에서 약물의 피부투과속도는 50% PG와 100% PG에서 약물의 피부투과속도보다 각각 약 39.4배 및 677배 정도 크게 나타났다.

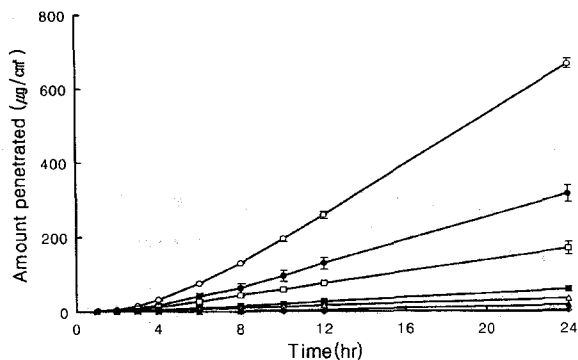


Figure 4—Permeation profiles of clenbuterol from different buffer (pH 10)/PG solvent mixtures. Key : ○; 100% buffer, ●; 10% PG, □; 20% PG, ■; 30% PG, △; 40% PG, ▲; 50% PG, ◇; 100% PG. Symbols represent the average of data(n=3).

Table I—Permeation Parameters of Clenbuterol from Different Buffer(pH 10)/PG Solvent Mixtures

Solvent	Permeation parameters		
	T_L (hour)	J_s ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)	P ($\times 10^3$, cm/hr)
100% Buffer	2.61 ± 0.21	33.87 ± 0.22	6.77 ± 0.04
10% PG	2.79 ± 0.21	15.69 ± 0.84	3.14 ± 0.17
20% PG	2.86 ± 0.77	7.80 ± 1.19	1.56 ± 0.24
30% PG	3.07 ± 0.12	2.69 ± 0.37	0.54 ± 0.07
40% PG	3.22 ± 0.25	1.50 ± 0.17	0.30 ± 0.03
50% PG	3.59 ± 0.44	0.86 ± 0.05	0.17 ± 0.01
100% PG	4.53 ± 0.39	0.05 ± 0.01	0.01 ± 0.00

T_L : lag time, J_s : flux, P : permeability coefficient

피부투과 촉진제의 종류에 따른 피부투과

완충액대 PG 비율을 5:5(50% PG)로 한 용매에 피부투과 촉진제로 지방산류인 capric acid, lauric acid, myristic acid, stearic acid, oleic acid와 지방산 알콜류인 lauryl alcohol, oleyl alcohol을 사용해 피부투과 실험을 한 결과를 Table II와 Figure 5에 나타내었다. 본 실험에 사용된 피부투과촉진제 중 클렌부테롤의 피부투과를 가장 촉진시키는 것은 lauryl alcohol로 나타났다. 또한 지방산 알콜류인 lauryl alcohol과 oleyl alcohol이 지방산류인 lauric acid와 oleic acid보다 각각 1.7배 및 1.6배 정도 투과 촉진 효과를 나타내었다. Myristic acid와 stearic acid를 제외하고는 대조군에 비하여 23배에서 76배까지 피부투과속도를 증가시켰다. 이러한 결과를 근거로 lauryl alcohol에 대한 피부투과 실험을 수행하였다.

Lauryl alcohol의 농도에 따른 피부투과

본 실험에 조건에서 가장 피부투과 촉진효과가 우수한 lauryl alcohol의 농도를 변화시키며 피부투과 실험을 한 결

Table II—Permeation Parameters of Clenbuterol from 50/50 Buffer(pH 10)/PG Solvent Mixtures with Various Enhancers. Concentration of Each Enhancer was 1%(w/v)

Enhancer	Permeation parameters		
	T_L (hour)	J_s ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)	P ($\times 10^3$, cm/hr)
Control	35.9 ± 0.44	0.86 ± 0.05	0.17 ± 0.01
Capric acid	2.67 ± 0.46	31.94 ± 4.51	6.32 ± 0.93
Lauric acid	2.65 ± 0.79	37.33 ± 3.14	7.47 ± 0.63
Myristic acid	3.20 ± 1.74	4.17 ± 0.61	0.83 ± 0.12
Stearic acid	3.05 ± 0.57	4.74 ± 0.87	0.95 ± 0.17
Oleic acid	2.79 ± 0.22	23.77 ± 0.16	4.75 ± 0.03
Lauryl alcohol	1.53 ± 0.60	62.41 ± 2.12	12.48 ± 0.42
Oleyl alcohol	3.61 ± 0.28	36.69 ± 2.55	7.34 ± 0.51

T_L : lag time, J_s : flux, P : permeability coefficient

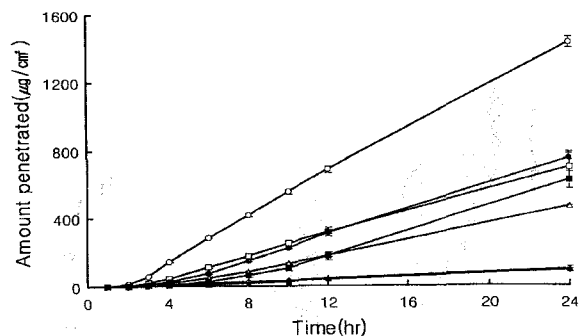


Figure 5—Permeation profiles of clenbuterol from 50/50 buffer(pH 10)/PG solvent mixtures with various enhancers. Concentration of each enhancer was 1%(w/v). Key : ○; Lauryl alcohol, ●; Lauric acid, □; Capric acid, ■; Oleyl alcohol, △; Oleic acid, ▲; Stearic acid, ◇; Myristic acid. Symbols represent the average of data(n=3).

과를 Figure 6에 나타내었으며, Figure 7 및 Table III에서 보듯이 피부투과 촉진제의 농도가 2%까지 증가할수록 농도의존적으로 클렌부테롤의 피부투과도가 증가되는 것을 알 수 있었다.

Lauryl alcohol을 함유한 용매 조성에 따른 피부투과

완충액에 대한 PG양에 따른 피부투과 실험과 피부투과

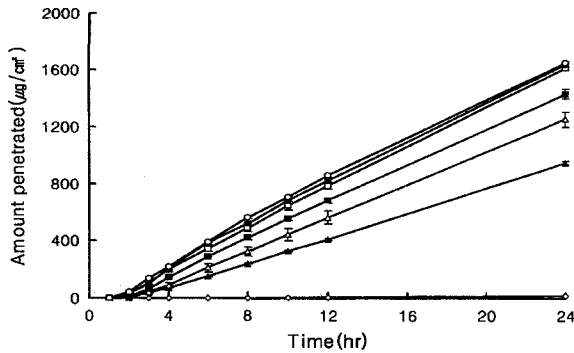


Figure 6—Permeation profiles of clenbuterol from 50/50 buffer(pH 10)/PG solvent mixtures with various concentrations of lauryl alcohol. Key : ○;5%, ●;3%, □;2%, ■;1%, △;0.5%, ▲; 0.1%, ◇; 0%(control). Symbols represent the average of data(m=3).

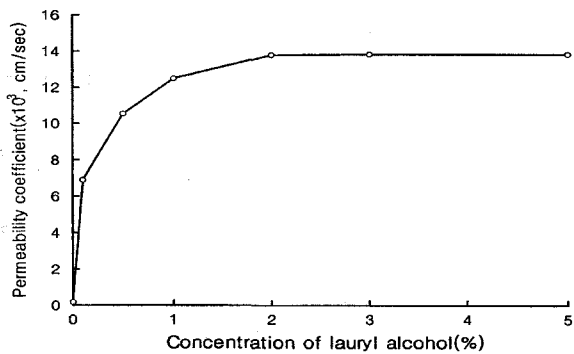


Figure 7—Permeability coefficient profile of clenbuterol as a function of lauryl alcohol concentration.

Table III—Permeation Parameters of Clenbuterol from 50/50 Buffer(pH 10)/PG Solvent Mixtures with Various Concentrations of Lauryl Alcohol

Concentration	Permeation parameters		
	T _L (hour)	J _s (µg/cm ² /hr)	P (×10 ³ , cm/hr)
0%	3.59±0.44	0.86±0.05	0.17±0.01
0.1%	2.58±0.68	35.38±1.18	6.87±0.11
0.5%	2.30±0.77	52.77±1.35	10.55±0.27
1%	1.53±0.60	62.41±2.12	12.48±0.42
2%	1.42±0.12	68.38±1.29	13.80±0.26
3%	1.37±0.13	68.57±1.27	13.83±0.25
5%	1.35±0.02	68.68±0.20	13.85±0.02

T_L : lag time, J_s : flux, P : permeability coefficient

촉진제의 종류에 따른 피부투과 실험 및 피부투과 촉진제의 농도에 따른 피부투과 실험을 종합하여 용매와 피부투과 촉진제의 최적 formulation을 알기 위하여, 완충액에 대한 PG 양을 변화시키면서 피부투과를 가장 촉진시키는 피부투과 촉진제를 사용하여 피부투과 실험을 한 결과를 Table IV과 Figure 8에 나타내었다. 완충액대 PG의 비율이 50:50(50% PG)인 용매에 2% lauryl alcohol을 피부투과 촉진제로 사용하였을 때가 클렌부테롤의 피부투과도가 가장 높음을 알 수 있었다. 50% PG에 피부투과 촉진제인 lauryl alcohol이 2% 첨가된 용매의 피부투과도는 100% 완충액을 사용한 피부투과도보다 2.04배 증가하였다. 또한 lag time이 유의성 있게 감소하였으며, permeability coefficient값은 유의성 있게 증가하는 것을 알 수 있었다.

결론

β₂-adrenergic receptor에 선택성이 강해 기관지 천식 및 만성 폐쇄성 호흡기 질환에 사용되는 약물인 클렌부테롤의 폐취제로의 개발을 목적으로, 기본적인 물리화학적 성상인

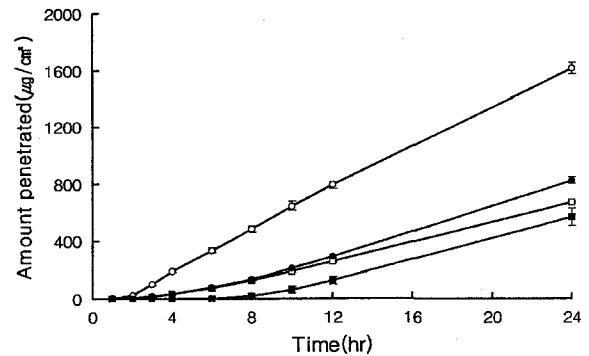


Figure 8—Permeation profile of clenbuterol from different buffer(pH 10)/PG solvent mixtures with lauryl alcohol. Key : ○; 2% lauryl alcohol in 50%PG, ●; 2% lauryl alcohol in 20%PG, □; 100% buffer, ■; 2% lauryl alcohol in 100%PG. Symbols represent the average of data(n=3).

Table IV—Permeation Parameters of Clenbuterol from Different Buffer(pH 10)/PG Solvent Mixtures with Lauryl Alcohol

Formulation	Permeation parameters		
	T _L (hour)	J _s (µg/cm ² /hr)	P (×10 ³ , cm/hr)
100% Buffer	2.61±0.21	33.87±0.22	6.77±0.04
2% Lauryl alcohol in 20% PG	1.98±0.10	43.73±1.17	8.75±0.23
2% Lauryl alcohol in 50% PG	1.42±0.72	68.38±1.29	13.80±0.26
2% Lauryl alcohol in 100% PG	4.20±0.90	36.05±6.79	7.21±1.36

T_L : lag time, J_s : flux, P : permeability coefficient

유수분배계수와 용해도를 조사하였다. 완충액의 pH가 증가할수록 겔보기 유수분배계수는 증가하였다. 유수분배계수가 적당한 pH 10에서는 약물의 용해도가 떨어지므로 용해도를 증가시킬 목적으로 완충액에 다양한 비율로 PG를 첨가한 결과 PG의 비율이 증가할수록 용해도가 증가하였다. Franz diffusion cell과 hairless mouse skin을 사용하여 다양한 용매로 피부투과 실험을 한 결과 pH 10인 완충액에 PG의 비율이 증가할수록 피부투과도는 현저히 감소하였다. 피부투과도를 증가시키기 위하여 다양한 지방산류와 지방산 알콜류 등 피부투과 촉진제를 사용하여 피부투과 실험을 한 결과 지방산 알콜류가 지방산류보다 피부투과도를 촉진시켰으며, 다양한 피부투과 촉진제 중 탄소수가 12인 lauryl alcohol의 피부투과 촉진효과가 가장 우수하였다. 본 실험조건에서 가장 효과적인 피부투과 촉진제인 lauryl alcohol은 0~2%에서 농도 의존적으로 피부투과도를 증가시켰으나 2% 이상에서는 투과도의 큰 변화가 없었다. 용매의 조성비율을 달리하면서 가장 효과적인 피부투과 촉진제인 lauryl alcohol을 첨가한 피부투과 실험에서 완충액대 PG의 비율이 50:50(50% PG)인 용매에 2% lauryl alcohol을 첨가하였을 때가 가장 피부투과도가 좋았다. 현재까지 얻은 결과를 기본으로, 최적의 용매 조성 및 우수한 피부투과 촉진제의 선정과 더불어, 경피투여용 패취제 개발에 필수적인 피부와의 친화력이 우수하고 피부자극성이 없는 매트릭스나 조질막 및 접착제의 개발에 대한 연구를 통하여 패취제의 개발이 가능할 것이며, 이러한 자료를 토대로 이와 비슷한 약물의 패취제 개발에 응용하는 것이 가능할 것으로 기대된다.

감사의 말씀

본 연구는 한국학술진흥재단 자유공모과제(1988-001-F00833) 연구비에 의하여 수행되었으며 지원에 감사를 드립니다.

문헌

- 1) Y.W. Chien, *Novel Drug Delivery System*, Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A. (1992).
- 2) G.L. Flynn and B. Stewart, Percutaneous drug penetration: Choosing candidates for transdermal development, *Drug Dev. Res.*, **13**, 169-185 (1988).
- 3) C. Pasotti, A. Capra and C. Vibelli, NAB 365(clenbuterol) and salbutamol in asthmatics: a double-blind clinical trial, *Int. J. Clin. Pharmacol. Biopharm.*, **17**, 176-180 (1979).
- 4) Y. Itaru, I. Kohji. and N. Mitsuyoshi, Pharmacokinetics of plasma and urine clenbuterol in man, rat and rabbit, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **8**, 385-391 (1985).
- 5) F. Masaki, K. Yumie, H. Takuma and M. Tamotsu, Cough receptor sensitivity and bronchial responsiveness in patients with only chronic nonproductive cough: In view of effect of bronchodilator therapy, *J. Asthma*, **31**, 463-472 (1994).
- 6) R.J. Scheuplein, Skin as a barrier : In *The Physiology and Pathophysiology of Skin*, Vol. 5, A. Jarret(Ed.), Academic Press, New York, U.S.A., pp. 1693-1730 (1978).
- 7) E.R. Cooper, E.W. Merrit and R.L. Smith, Effect of fatty acids and alcohols on the penetration of acyclovir across human skin *in vitro*, *J. Pharm. Sci.*, **74**, 688-689 (1985).
- 8) J. Yukawa, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, Effect of various additives on the skin permeation of ketoprofen from the film forming transdermal formulation, *Yakuzaigaku*, **49**, 254-262 (1989).
- 9) D.J. Chatterjee, W.Y. Li and R.T. Koda, Effect of vehicles and penetration enhancers on the *in vitro* and *in vivo* percutaneous absorption of methotrexate and edatrexate through hairless mouse skin, *Pharm. Res.*, **14**, 1058-1065 (1997).
- 10) B.J. Aungst, N.J. Rogers and E. Shefter, Enhancement of naloxone penetration through human skin *in vitro* using fatty acids, fatty alcohols, surfactant, sulfoxides and amides, *Int. J. Pharm.*, **33**, 225-234 (1986).
- 11) R.S. Hinz, C.D. Hodson, C.R. Lorence and R.H. Guy, *In vitro* percutaneous penetration: evaluation of the utility of hairless mouse skin, *J. Invest. Dermatol.*, **93**, 87-91 (1989).
- 12) M.H.A. Botterblom, M.G.P. Feenstra and E.B.H.W. Erdtsieck-Ernste, Determination of propranolol, labetalol and clenbuterol in rat brain by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatography*, **613**, 121-126 (1993).
- 13) H.S. Curry, *Manual of laboratory pharmacokinetics*, John Wiley & Sons, New York, U.S.A., pp. 41-52 (1983).
- 14) K.I. Cumming and A.J. Winfield, *In vitro* evaluation of a series of sodium carboxylates as dermal penetration enhancers, *Int. J. Pharm.*, **108**, 141-148 (1994).
- 15) T.K. Ghosh, W.R. Pfister and S.I. Yum, *Transdermal and topical drug delivery systems*, Interpharm Press, Inc., Buffalo Grove, IL, U.S.A., (1997).
- 16) H. Oishi, Y. Ushio, K. Narahara and M. Takehara, Effect of vehicles on percutaneous absorption. I. Characterization of oily vehicles by percutaneous absorption and trans-epidermal water loss test, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 1765-1773 (1976).
- 17) R.L. Bronaugh, E.R. Congdon and R.J. Scheuplein, The effect of cosmetic vehicles on the penetration of n-nitrosodiethanolamine through excised human skin, *J. Invest. Dermatol.*, **76**, 94-96 (1981).
- 18) H. Okamoto, K. Muta, M. Hashida and H. Sezaki, Percutaneous penetration of acyclovir through excised hairless mouse and rat skin: Effect of vehicle and percutaneous penetration enhancers, *Pharm. Res.*, **7**, 64-68 (1990).
- 19) D.D. Kim and Y.W. Chien, Transdermal delivery of dideoxynucleoside-type anti-HIV drugs. 2. The effect of vehicle and enhancers on skin permeation, *J. Pharm. Sci.*, **85**, 214-219 (1996).