약제학회지(2004), 제 34 권 제 2 호
J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 34, No. 2, 107-114 (2004)

프로스타글란딘 E_1 에칠에스테르의 외용 리오겔 제제 설계

양성운 · 이진교 · 이지은 · 김희규* · 박혜숙* · 김종석* · 최한곤** · 용철순** · 최영욱*,†

*구주제약(주), *중앙대학교 약학대학, **영남대학교 약학대학*

(2004년 2월 9일 접수 · 2004년 3월 20일 재심사 · 2004년 4월 12일 승인)

External Lyogel Formulation of Prostaglandin E_1 Ethyl Ester

Sung-Woon Yang, Jin-Kyo Lee, Ji-Eun Lee, Hee-Kyu Kim*, Hye-Sook Park*, Jong-Seok Kim*, Han-Gon Choi, Chul-Soon Yong** and Young Wook Choi*,†**

Formulation Lab. Guju Pharmaceutical Co. Ltd., Kyeongkido 445-964, Korea
**College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea*
***College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea*

(Received February 9, 2004 · Revised March 20, 2004 · Accepted April 12, 2004)

ABSTRACT–External lyogels containing prostaglandin E_1 ethyl ester (PGE_1-EE), a prodrug of prostaglandin E_1 (PGE_1) as a therapeutic agent for erectile dysfunction, were formulated to overcome the aqueous instability and enhance the percutaneous absorption. Lyogels of PGE_1-EE were prepared with ethanol (EtOH)/proplyene glycol (PG) cosolvent system as a vehicle, cineol as an enhancer, and hydroxypropylcellusose as a gelling agent. *In vitro* percutaneous absorption studies were performed to determine the rate of PGE_1 absorption through rat or hairless mouse skin. The permeability of PGE_1-EE lyogel with enhancer was 16-fold greater than that of lyogel without enhancer. Cosolvent produced 9-fold increase in percutaneous absorption. Pharmacodynamic effects of lyogels were evaluated in mature male cats in terms of intracavernosal pressure (ICP). Lyogels containing 0.1% of PGE_1-EE showed higher ICP compared to intraurethral preparation of PGE_1 (1%) and enhancer-free control lyogel. The shelf-life ($t_{10\%}$) of lyogel at refrigerated condition (4°C) was calculated as 928 days, which is 4.2 times longer than that of control hydrogel. As a result, PGE_1-EE was formulated successfully to a lyogel system with a selective enhancer and cosolvent system for the topical delivery of PGE_1.

Key words–Erectile dysfunction, Prostaglandin E_1 ethyl ester, Prodrug, Lyogel, Percutaneous absorption

남성의 발기부전은 보통 성교에 필요한 정도의 충분한 발기를 이루지 못하거나 이를 지속시키지 못하는 상태를 말하며,[1] 미국에서만 2,000 – 3,000만 명의 발기부전 남성이 있는 것으로 보고되고 있다.[2] 발기부전의 원인은 노화, 당뇨, 전립선 질환, 신경 및 혈관계 이상, 호르몬계의 조절 이상, 수술 및 약물 투여 부작용, 심리적 이상 등에 기인하는 것으로 보고되며,[3-6] 치료 방법으로는 심리 치료, 외과적 수술, 보형물 삽입술, 진공압축장치의 이용, 약물 요법 등이 사용되고 있다.[4-7] 발기부전 치료에 사용된 약물로는 papaverine,[8] phentolamine,[9] atropine, yohimbine, trazodone, testosterone, pentoxyfyline, nitroglycerine, minoxidile 등이 주사, 경피 및 경구로 사용되었으나[10-12] 충분한 발기를 나타내지 못하고[13-16] 투여 부위의 통증 유발, 지속발기, 섬유화, 현기증, 졸음, 코막힘 등의 부작용이 보고되었으며[10] 비교적 최근에 개발된 phosphodiesterase type 5 억제제인 sildenafil, vardenafil, tadalafil 등의 경구용 약물은 발기부전 치료 효과가 우수한 반면 중증의 간장애, 신장 질환, 협심증, 저혈압 환자에게는 심각한 전신 부작용이 보고되는 등의 문제점이 있다.[17,18]

한편 Prostaglandin E_1(PGE_1)은 3', 5'-cyclic adenosine monophosphate의 세포내 농도를 상승시켜 혈관 평활근을 이완함으로 음경 해면체의 발기를 유도하는 것으로 보고되며[19] Ishi 등[20]에 의해 발기부전의 진단 및 치료에 처음 사용된 이후로 많은 연구가 진행되어 현재는 주사제 및 요도 주입제가 제품화되어있다. 그러나 주사제의 경우 음경의 동통, 지속발기, 감염, 섬유화, 자가주사에 대한 두려움 등의 부작용으로 인해[21-24] 환자의 반 이상이 치료를 중단하며[25,26] 요도 주입제의 경우도 근위요도해면체(distal pars spongiosa)에 applicator를 2~3 cm 정도 삽입해야하는 부담감과 투여 부위의 심한 통증도 치료를 지속하는데 장애가 되고 있다.[7,27,28] 이러한 문제를 극복하기 위해 PGE_1 외용제제에 대한 연구가 진행되었으나 PGE_1의 낮은 경피흡수와 제제중에서의 불안정함으로 인해 뚜렷한 성과를 얻지 못하고 있다.

한편 Sheu 등[29]과 Ho 등[30]은 PGE_1의 프로드럭인 PGE_1

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)820-5609, E-mail : ywchoi@cau.ac.kr

alkyl ester를 알코올성 완충용액에 용해시켜 모약물 보다 현저히 높은 경피흡수를 보고하여 외용제제의 가능성을 시사하였으나 PGE_1의 낮은 경피흡수와 불안정성을 완전히 극복하지는 못한 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 PGE_1의 경피흡수와 안정성을 증진시킨 발기부전 치료 외용제제 개발을 위해 PGE_1의 프로드럭인 PGE_1 ethyl ester를 주약으로, 경피흡수 촉진제로 terpene, 용매 시스템으로는 물을 사용하지 않고 알코올과 폴리올을 이용하여 lyogel을 제조하였으며 이에 대한 *in vitro* 경피흡수, 고양이에서의 약동력학적 효과 및 제제의 안정성을 평가하였다.

실험 방법

실험재료

Prostaglandin E_1(PGE_1) 및 prostaglandin E_1 ethyl ester (PGE_1-EE)는 Cascade Biochem Ltd.(Berkshire, 영국), cineol은 Sigma-Aldrich Company(St. Louis, MO, 미국), ethyl alcohol, anhydrous(99.9%)은 Carlo Erba Reagnti(Rodano, MI, 이태리), proplyene glycol(PG)은 Dow Chemical Korea Ltd., Hong Kong Branch(Wanohai, 홍콩), hydroxy propyl cellulose, H-type(HPC-H)은 Nippon Soda Ltd.(Tokyo, 일본), 스탠서 요도주입외용액은 구주제약(경기도, 한국)으로부터 구입하였으며 그 외의 시약은 1급 시약 및 HPLC grade 시약을 사용하였다. 실험에 사용된 동물인 SPF hairless mouse (5 – 7주, 체중 20 ± 3 g), Sprague-Dawley rat (7 – 8주, 체중 120 ± 10 g), 수고양이(체중 2.5 – 3.0 kg)는 Charles River Labs(U.S.A.), 한림실험동물(경기도, 한국), 삼육실험동물(경기도, 한국)로부터 각각 구입하여 사용하였다.

리오겔의 제조

PGE_1 및 그 에스테르는 수용액 중에서는 화학적으로 매우 불안정하여[31-33] 제제중 물이 함유될 경우 약물의 안정성 유지가 어려우므로 본 연구에서는 물을 함유하지 않는 lyogel을 제조하여 실험에 사용하였다. PGE_1 또는 PGE_1-EE를 제제중 0.1 – 0.5%가 함유되도록 실온에서 용제(무수에탄올과 PG 혼액)에 용해시킨 뒤 흡수촉진제(cineol, 5 – 10%)와 겔화제(HPC-H, 2 – 3%)를 넣어 조성물의 온도를 5℃ 이하로 유지하며 Ultra Turax T-25(Ika Labor technik, 독일)를 이용하여 1,500 rpm으로 HPC-H를 분산시켜 lyogel을 제조하였으며 제조한 lyogel은 사용 직전 까지 냉장(4℃) 조건에서 보관하였다.

PGE_1 및 PGE_1-EE의 동시정량

PGE_1-EE는 PGE_1의 에스테르 프로드럭으로 피부투과시 피부에 존재하는 esterase에 의해 PGE_1으로 가수분해되므로 각 약물의 경피흡수 농도를 HPLC로 동시에 정량하고자 하였다.[29] 분석에 사용된 장비로는 Hitachi HPLC system(Hitachi, Tokyo, 일본)인 Hitachi L-7100 펌프, Hitachi L-7400 UV/Vis 검출기, Hitachi L-7200 자동시료주입기를 사용하였으며 이동상은 아세토니트릴, 20 mM 인산염완충액(50:50 v/v, pH 3.3), 유속은 1 ml/min, 파장은 202 nm, 컬럼은 Capcell pak UG C_{18}(5 μm, 4.6 × 250 mm, Tokyo, 일본)을 사용하였다.

피부 가수분해 실험

흰쥐를 경추탈구 방법에 의하여 고통없이 죽이고 전체 피부를 벗긴 후 진피에 부착되어 있는 지방, 근육, 모세혈관을 제거하였다. 적출한 피부를 잘게 절단한 후 5배 용량의 pH 7.4 트리스완충액(0.15 M KCl 함유)을 가한 후 온도를 4℃ 이하로 유지시키며 Ultra Turrax T25(Ika Labortechnik, 독일)를 이용하여 19,000 rpm에서 수 차례에 걸쳐 분쇄하였다. 전체 분쇄물을 Centrikon T-1170 초원심분리기(Kontron Instruments, 영국)를 이용하여 0℃에서 10,000 g로 20분간 원심 분리한 후 다시 100,000 g로 1시간 동안 원심분리 하였으며 상징액인 흰쥐 피부 균질액을 취하여 실험에 사용하기 전 까지 –80℃에서 보관하였다. 가수분해 실험은 PGE_1-EE를 트리스완충액에 용해시킨 stock 용액에 피부 균질액 2 ml을 가하여 온도를 37℃로 유지시키며 진행하였다. 정해진 시간마다 시료 50 μl를 취한 후 여기에 메탄올 100 μl를 가하여 제단백을 하였으며 다시 원심분리한 후 상징액을 취해 HPLC로 PGE_1 및 PGE_1-EE를 동시 정량하였다.

In Vitro 경피흡수 실험

무모마우스 또는 흰쥐의 피부를 *in vitro* 경피흡수 실험에 사용하였다. 무모마우스와 흰쥐를 경추탈구 방법에 의하여 고통 없이 죽이고 전체 피부를 벗긴 후 진피에 부착되어 있는 지방을 이소프로판올로 문질러 깨끗이 제거하였으며, 흰쥐의 경우에는 전기이발기구(Aeculp, 독일)로 상처가 생기지 않도록 주의하여 면도한 후 피부를 적출하였다. 적출한 피부를 식염수로 세척하고 Franz diffusion cell의 위쪽에 각질층이 향하게 하여 장착한 후 아래쪽에는 sink condition이 유지되도록 에탄올/pH7.4 트리스완충액(30:70, v/v)을 가한 뒤 자석교반기로 교반하며 온도를 37℃로 유지하였다. 이때의 확산면적은 2 cm^2이었고 receptor 매질의 용량은 11 ml이었다. Donor 부위에 lyogel 1 g을 가한 후 파라핀 필름을 덮어 시료의 휘발을 차단하였으며 총 6시간 동안 정해진 시간에 따라 receptor 부위로부터 100 μl를 취한 후 HPLC로 PGE_1 및 PGE_1-EE를 동시에 정량하였다.

In Vivo 효능 실험

체중 2.5 – 3 kg 정도의 성숙한 수고양이를 펜토바비탈(40 mg/kg)로 마취시키고 성기를 덮고 있는 피부를 절개한 다음 음경 해면체 내압(ICP, mmHg)을 측정하기 위해 23 G 바늘을 각각 삽입하였다. Lyogel 200 mg을 음경 해면체 내압이 정상일 때 성기에 도포하고 ICP 및 발기 팽창의 발현 시간 등을 측정하여 약동력학적 효과를 평가하였다. ICP 및 발기 팽창의 발현 시간 등은 grass model 7 polygraph(Grass Instrument Company, USA)에 연결된 statum P23 transducer에 의해 측정하였으며 발현 시간은 제제의 적용 후 baseline에서 ICP가 상승하여 일정 압력을 지속적으로 유지하기 시작하는 시점으로 규정하였다.

리오겔의 안정성 실험

PGE_1-EE는 수용액 중에서 화학적으로 매우 불안정하므로 본 연구에서는 PGE_1-EE의 안정성을 증진시키기 위해 물을 함유하지 않는 lyogel formulation을 제조하였으며 이의 안정성을 평가하기 위해 PGE_1-EE hydrogel을 대조 제제로 하여 물을 함유하지 않는 lyogel 제제와의 안정성을 비교하였다. 본 실험의 대조 제제인 PGE_1-EE hydrogel은 lyogel 처방의 PG를 물로 대체하여 제조하였다. 제조된 두 제제를 각각 기밀용기인 glass vial에 넣고 20°C, 30°C, 40°C의 incubator에서 30일간 보관하며 정해진 기간마다 시료를 취한 후 무수에탄올을 가해 녹인 뒤 여과하여 HPLC로 주약인 PGE_1 ethyl ester의 함량을 측정하였다.

결과 및 고찰

피부 가수분해

피부 가수분해 실험결과는 Figure 1에 나타내었으며 프로드럭인 PGE_1-EE의 1차 분해 속도상수 k는 0.0334로서 반감기($t_{1/2}$)는 약 20분이었으며 100분 이내에 소실되어 모약물인 PGE_1으로 전환됨을 알 수 있었다. 그러나 PGE_1-EE의 분해에 비해 PGE_1의 생성은 다소 늦게 나타났으며 약 200분이 경과한 후 PGE_1으로 모두 전환됨을 확인할 수 있었다. 이에 대한 상세한 내용은 본 논문에는 언급하지 않았지만 PGE_1-EE가 직접 PGE_1으로 가수분해되는 경로와 미확인 물질(X)을 거쳐서 PGE_1으로 전환되는 다른 경로가 있음을 알게되었으며(미발표 연구결과) 이로 인해 PGE_1으로의 전환이 PGE_1-EE의 분해에 비해 다소 늦게 나타난 것으로 사료되었다. 즉 가수분해 실험에 있어서 HPLC 크로마토그램을 확인해 보면 PGE_1-EE와 PGE_1이 아닌 미확인 물질 X를 확인할 수 있었으며 초기 약 50분까지는 증가하였다가 서서히 감소

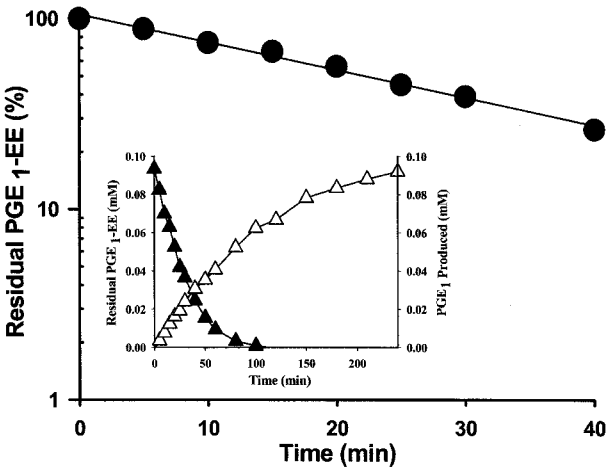

Figure 1–Hydrolysis of PGE_1-EE in rat skin homogenate. (●) Residual PGE_1-EE(%). Inset: (▲) Residual PGE_1-EE(mM), (△) Produced PGE_1(mM).

하여 PGE_1으로 모두 전환되는 시점에서는 X가 완전히 소실됨을 알 수 있었다. 한편 PGE_1-EE를 피부 가수분해 실험의 용제로 사용된 pH 7.4 트리스완충액(0.15 M KCl 함유)에 따로 녹여 피부 가수분해 실험과 동일한 조건에서 안정성을 평가한 결과 PGE_1으로의 전환은 관찰되지 않았으며 초기에 비해 PGE_1-EE 함량의 저하도 없었다. 따라서 피부 가수분해 실험에서 프로드럭인 PGE_1-EE의 모약물로의 전환은 피부에 존재하는 esterase에 기인한 것으로 사료되었다.

In Vitro 경피흡수

Sheu 등[29]과 Ho 등[30]은 PGE_1의 프로드럭인 PGE_1 alkyl ester를 각각 알코올성 수용겔과 알코올성 수용액에 녹여 경피흡수를 평가한 결과 모약물인 PGE_1에 비하여 현저히 높은 경피흡수를 나타냄을 보고하였다. 그러나 PGE_1 및 그 alkyl ester들은 수용액중에서 매우 화학적으로 불안정한 특성을 지닌 약물로서[31-33] 물을 함유한 조성으로는 약물의 경피흡수를 증진시키더라도 shelf-life 동안의 안정성 확보가 어렵기 때문에 PGE_1 경피흡수 제제의 개발에 장애가 되고 있다. 또한 비수성 조성물의 경우에는 수성 제제에 비해 PGE_1의 안정성은 증진시킬 수 있으나 경피흡수가 현저히 저하되는 문제를 갖고 있다.

따라서 본 연구에서는 PGE_1의 경피흡수를 촉진시키고 제제의 안정성을 확보하기 위한 방법으로 PGE_1의 에스테르 프로드럭인 PGE_1-EE를 주약으로 하여 비수성 첨가제만을 가지고 lyogel을 제조하였으며, 다양한 흡수 촉진제 및 용제에 대한 연구를 통해 흡수촉진제로 terpene류의 일종인 cineol과 용제로 proplyene glycol(PG)과 ethanol, anhydrous(EtOH)을 선택하였다. 대부분의 흡수촉진제들은 그 자체의 부작용

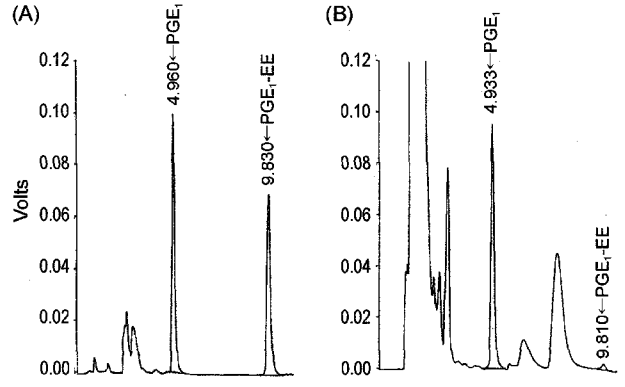

Figure 2–HPLC chromatograms of PGE_1 and PGE_1-EE. (A) Standard stock solution of PGE_1(30 μg/m*l*) and PGE_1-EE(30 μg/m*l*), (B) Sample receptor solution at 6 hr after penetration study of PGE_1-EE lyogel through rat skin.

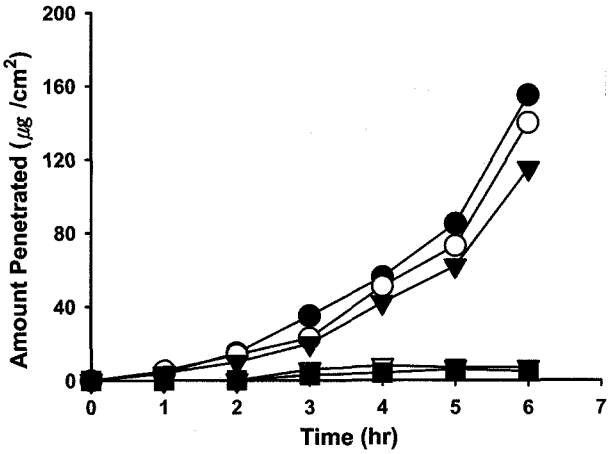

Figure 3–Penetration profiles of PGE_1 through rat skin according to the various ratio(w/w) of EtOH:PG in PGE_1-EE(0.1%) lyogel formulations containing cineol(5%) as an enhancer. (■) EtOH only, (▽) PG only, (●) EtOH:PG (3:1), (○) EtOH:PG (1:1), (▼) EtOH:PG (1:3).

으로 인해 경피흡수 제제의 사용에 많은 제약을 받고 있으므로 피부 자극이 낮은 흡수촉진제의 선택이 바람직하다. 테르펜은 식물의 꽃, 열매, 잎에서 얻어지는 휘발성 향료성분으로 식품 및 화장품의 향료로도 사용되며 수종의 약물에 대해서 경피흡수 촉진작용이 보고되고 있다.[34-36] 본 연구에서는 테르펜류인 cineol을 흡수촉진제로, terpene과 시너지 효과가 있는 것으로 보고되는 EtOH[37,38]과 PG[39]를 용제로, 겔화제로 hydroxypropylcellulose, H-type(HPC-H)을 사용하여 흰쥐와 무모마우스에서의 PGE_1-EE lyogel의 경피흡수를 평가하였다.

흰쥐와 무모마우스 피부를 통한 PGE_1-EE의 경피흡수를 평가하기 위해 receptor 용액중의 PGE_1-EE와 PGE_1을 동시에 정량하였으나 거의 대부분이 PGE_1이었으며 PGE_1-EE는 매우 적은 양이 검출되었다. Figure 2는 흰쥐의 피부를 이용한 경피흡수 실험에서 최종 시료 채취 시기인 6시간째의 PGE_1 및 PGE_1-EE의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이다. 이를 통해 프로드럭인 PGE_1-EE는 피부의 esterase에 의해 신속히 모약물로 전환됨을 알 수 있었으며 이 후의 경피흡수 결과의 투과량은 PGE_1으로만 나타내었다.

제제중 용제로 사용된 무수에탄올과 PG의 비율을 달리함에 따른 흰쥐에서의 PGE_1-EE(0.1%) lyogel의 경피흡수 결과를 Figure 3에 나타내었으며, EtOH/PG 3:1, 1:1, 1:3, 무수에탄올 단독 및 PG 단독을 함유한 formulation에 대한 각각의 flux(μg/cm^2/hr)는 33.0, 30.2, 25.2, 1.3, 1.5이었다. 용제로 무수에탄올 및 PG를 단독으로 사용한 경우에 비해 EtOH/PG를 3:1로 사용한 경우가 약 20배 이상의 flux를 나타내었으며 EtOH/PG를 혼용한 모든 조성에서도 각각의 단독 용매에 비해 월등히 높은 경피흡수를 나타내었다. 따라서 PG와 무수에탄올의 혼합용매는 제제의 용제일 뿐만이 아니라 PGE_1의 경피흡수를 촉진하는 흡수촉진제로 작용하며 이들 두 용매간에는 PGE_1의 경피흡수에 시너지 효과가 있는 것으로 사료된다.

무수에탄올을 단독으로 사용한 경우 경피투과가 저하된 이유로는 고농도의 에탄올에 의해 제제 중 약물의 친화력이 증가하면서 경피투과시의 열역학적 활성도가 감소하였거나 에탄올이 피부내의 esterase의 활성을 저하시킴으로 인해 프로드럭의 PGE_1으로의 전환이 감소된 데 기인하였을 것으로 사료되며 고농도의 에탄올을 용제로 사용할 경우 피부의 구조적 변화로 인해 약물의 경피투과가 저하된다는 보고도 있다.[40] 또한 PG를 단독으로 사용한 경우에는 PGE_1-EE 및 흡수촉진제인 cineol의 PG에 대한 낮은 용해도에 기인하여 완전한 분산이 되지 않아 경피흡수가 저하되었을 것으로 사료된다.

앞선 흰쥐에서의 경피흡수 실험 결과 cosolvent인 EtOH/PG의 비가 3:1일때 가장 높은 flux(33.0 μg/cm^2/hr)를 나타내었으나, 이 경우 제제중 에탄올의 함유율이 60%를 초과하므로 피부 자극을 유발할 위험이 있을 것으로 생각되었다. 한편 EtOH/PG의 비가 1:1의 경우도 3:1과 유사한 flux (30.2 μg/cm^2/hr)를 나타내므로 이 후의 *in vitro* 경피투과 실험 및 *in vivo* 효능 시험에는 제제중 EtOH/PG의 비율을 1:1로 하였으며 경피흡수의 증진 및 lag time의 단축을 위해 흡수촉진제인 cineol의 제제중 함량은 10%로 증가시켰다.

PGE_1-EE(0.5%) lyogel과 대조 제제로 PGE_1(0.5%) lyogel, 흡수촉진제인 cineol만을 제외시킨 PGE_1-EE(0.5%) lyogel, cosolvent인 PG/EtOH을 제외하고 미네랄오일로 대체시킨 PGE_1-EE(0.5%) lyogel을 제조하였으며 각각의 제제에 대해

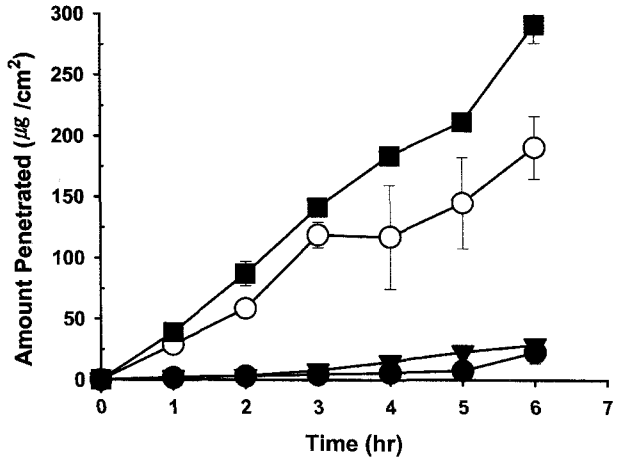

Figure 4–Penetration profiles of PGE_1 through hairless mouse skin in various lyogel formulations containing EtOH:PG(1:1) as a co-solvent and cineol(10%) as a enhancer. (■) PGE_1-EE lyogel, (○) PGE_1 lyogel, (●) PGE_1-EE control lyogel without enhancer, (▼) PGE_1-EE control lyogel without cosolvent.

cineol은 10%, PG/EtOH의 비율은 1:1, 겔화제로는 HPC-H를 사용하여 무모마우스에서 *in vitro* 경피흡수 실험을 진행한 결과는 Figure 4에 나타내었다. PGE_1-EE lyogel, PGE_1 lyogel, cineol을 제외한 PGE_1-EE lyogel, EtOH/PG 대신 미네랄오일을 첨가한 PGE_1-EE lyogel의 flux는 각각 47.0, 30.8, 5.0, 2.9를 나타내었다. PGE_1-EE lyogel은 흡수촉진제 및 EtOH/PG를 제외한 대조 제제에 비해 각각 약 16.2배, 9.4배의 flux를 나타내었으며 이 결과로 흡수촉진제인 cineol과 용제인 EtOH/PG가 PGE_1의 경피흡수를 현저히 증진시킴을 알 수 있었다. 한편 흡수촉진제인 cineol이 제외된 대조 제제의 지연시간은 5시간에 달하였으며 비록 동물 모델이 다르지만 흰쥐를 사용한 경피흡수 실험(Figure 3)에서의 lyogel (cineol 5% 함유)은 2 – 3시간의 지연을 나타낸 반면 cineol 10%를 함유한 PGE_1-EE lyogel은 지연시간이 관찰되지 않았다. 이를 통해 흡수촉진제인 cineol이 PGE_1-EE의 지연시간을 현저히 감소시킴을 알 수 있었다.

Obata 등[37]과 Kobayash 등[38]은 에탄올이 terpene과 병용될 경우 경피흡수 촉진효과를 나타냄을 보고하였으며, Barry 등[39]은 PG/물 cosolvent 시스템이 terpene에 대해 시너지 효과가 있음을 보고하였다. 본 연구에서 나타난 EtOH/PG의 경피흡수에 대한 시너지 효과는 다음과 같이 용매견인효과(solvent drag effect)와 분배의 증가에 기인하였을 것이라 생각되었다. 즉, 먼저 흡수촉진제에 의해 각질층의 손상이 일어나고 이로 인해 cosolvent인 EtOH/PG의 경피투과 증가와 함께 약물의 투과도 증가되었을 것이며 또한 EtOH/PG이 피부에 축적됨에 따라 cosolvent에 친화력이 큰 약물인 PGE_1-EE의 분배도 증가됨으로 경피흡수 촉진이 나타났을 것으로 사료된다.

한편, Sheu 등[29]은 선행된 연구에서 PGE_1과 프로드럭인 PGE_1-EE를 에탄올 함량을 달리한 에탄올성 수용액 및 에탄올 함유 hydrogel로 각각 제조하여 *in vitro* 무모마우스에 대한 경피흡수를 Franz type vertical diffusion cell로 평가하였다. 그 결과 에탄올성 수용액에서 PGE_1-EE가 PGE_1 보다 최소 30배 이상의 높은 투과량을 보여주었으며 PGE_1-EE 에탄올 함유 hydrogel(에탄올20%)의 최대 flux 값은 3.13 ($\mu g/cm^2/hr$)이었다. 그러나 본 연구에서는 PGE_1-EE lyogel이 PGE_1 lyogel 보다 약 1.5배의 경피흡수 증진만을 나타냈다. 이는 본 연구의 경피흡수 증진 시스템이 PGE_1의 흡수도 상당히 증가시킴으로 인해 프로드럭과 모약물 간의 경피흡수율의 차이가 줄어든 것으로 생각된다. 즉 본 연구의 무모마우스에서의 경피흡수 실험 결과 PGE_1 lyogel의 flux는 30.8 ($\mu g/cm^2/hr$)로 Sheu 등이 보고한 PGE_1-EE hydrogel의 최대 flux 보다 오히려 약 10배 가량 높았으며 이는 본 연구의 lyogel 시스템이 PGE_1에 대해서도 우수한 경피흡수 효과를 나타낸 것으로 사료된다.

약동력학적 효과

흡수촉진제로 cineol 10%, 용제로 EtOH/PG(1:1), 겔화제로 HPC-H를 함유한 PGE_1-EE(0.1%) lyogel과 대조 제제로서 흡수촉진제만을 제외시킨 PGE_1-EE(0.1%) lyogel 및 음성 대조 제제로서 약물만을 제외시킨 lyogel을 각각 수고양이 음경점막에 200 mg씩 도포하였으며 대조 제제인 PGE_1 1% 함유 시판 요도 주입 외용액제(스탠서® 요도주입외용액)는 intraurethral route로 200 mg을 투여한 후 음경 해면체 내압(ICP) 및 약효 발현시간(onset time)을 측정하였다. ICP의 측정결과는 Figure 5에 나타내었으며 PGE_1-EE(0.1%) lyogel, 흡수촉진제를 제외시킨 PGE_1-EE(0.1%) lyogel 및 PGE_1(1%) 요도 주입 외용액제의 최대 ICP는 각각 122, 35, 57 mmHg로서 PGE_1-EE lyogel이 월등히 높은 ICP의 상승을 나타내었으며 약물을 제외시킨 음성 대조 제제에서는 약효의 발현이 관찰되지 않았다. 흡수촉진제가 제외된 PGE_1-EE lyogel과의 ICP의 차이는 앞선 무모마우스에서의 경피흡수 실험 결과와 부합하는 것으로 흡수촉진제인 cineol이 *in vivo* 고양이 음경에서도 흡수촉진 효과를 나타냄을 알 수 있다. 또한 PGE_1의 농도가 1%인 시판 요도 주입 외용액제 보다 PGE_1-EE 0.1%를 함유한 lyogel이 더 높은 ICP 상승을 나타낸 것을 볼 때 우수한 발기 유발효과를 나타낸 것으로 사료된다.

약효 발현시간은 PGE_1-EE lyogel, PGE_1-EE control lyogel (흡수촉진제 제외) 및 시판 요도 주입 외용액제가 각각 30분,

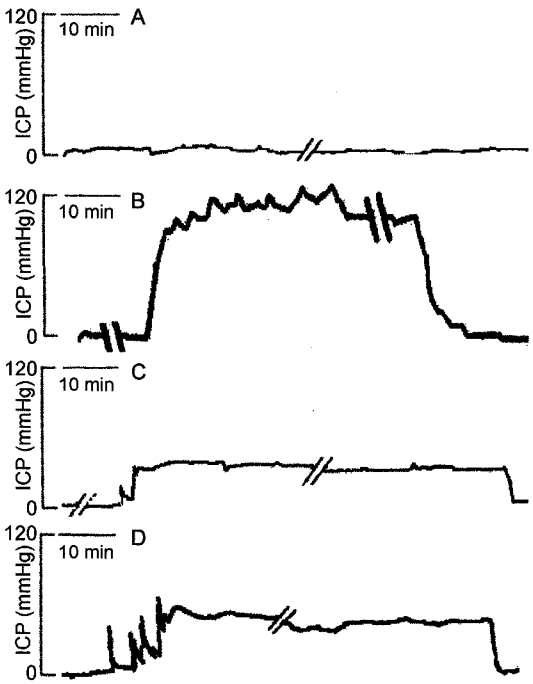

Figure 5–The results of intracavernous pressure(ICP) in corpus carvernosum in cat. (A) Lyogel without drug, (B) PGE_1-EE(0.1%) lyogel, (C) PGE_1-EE(0.1%) lyogel without enhancer, (D) PGE_1(1%) intraurethral preparation on the market.

40분, 15분으로 나타났으며 lyogel formulation이 요도 주입 외용액제에 비해 약효 발현시간이 늦어짐을 알 수 있다. lyogel은 제형이 반고형제이므로 제제로부터의 약물의 방출이 액제보다 지연되며 적용 부위도 요도 주입액제의 경우는 음경의 근위요도해면체(distal pars spongiosa) 부위의 비 각질화된 요도 점막인 반면 lyogel의 경우는 요도점막에 비해 상피층이 두꺼운 음경점막이므로 약효 발현시간이 지연된 것으로 사료된다.

한편, 일반적인 경피흡수에 관한 논문에서는 대개 1 – 4시간 정도의 지연시간을 보이는데 반해 본 연구에서의 *in vivo* 결과는 약 30 – 40분 정도로서 매우 빠르게 관찰되었다. 이는 무모마우스의 피부 투과시에는 각질층이 존재하여 피부의 장벽으로 작용하고 있으나, 고양이 음경 점막은 상대적으로 각질층이 없는 비 각질화된 상피 세포층이기 때문인 것으로 사료된다. 흡수촉제제로 사용된 cineol의 영향을 고찰해볼 때, 무모마우스 피부에 대해서는 cineol 함량이 10%의 경우는 지연시간이 관찰되지 않은 반면 cineol이 제외된 대조 제제는 약 5시간의 지연시간을 보였으나 *in vivo* 조건에서는 각각 30분과 40분의 지연시간을 나타내어 cineol이 각질층에 대해 흡수촉진 작용이 큼을 알 수 있었다. 이상의 결과를 속도론적으로 고찰해 보면, 앞에서 언급했듯이 흰쥐 피부 균질액에서 PGE_1-EE의 가수분해 반감기는 약 20분임을 감안할 때 *in vivo* 실험조건에서 충분한 양의 PGE_1이 생성되었을 것으로 생각되며 결과적으로 30 – 40분 이내에 약효가 발현된 것으로 사료된다.

Table I–*The Stability of Lyogel in Comparison to Hydrogel*

Formulation	$t_{1/2}$ (days)		$t_{90\%}$ (days)		Ea (kJ/mol)
	4°C	20°C	4°C	20°C	
Lyogel	6126.61	847.72	928.27	128.44	19.94
Hydrogel	1452.57	181.66	220.09	27.52	20.95

리오겔의 안정성

PGE_1-EE lyogel과 대조 제제인 PGE_1-EE hydrogel formulation을 20°C, 30°C, 40°C에서 30일간 보관하며 초기, 7, 14, 21, 30일째에 함량을 분석한 후 각 온도별 분해속도 상수 (K)를 구하고 Arrhenius 플롯에 의해 냉장(4°C)과 20°C에서의 K 값을 구한 후 shelf-life($t_{10\%}$)와 half-life($t_{1/2}$)를 얻었으며 그 결과는 Table I에 나타내었다. PGE_1-EE lyogel의 냉장 및 20°C에서의 shelf-life는 각각 928일(2.5년), 128일(4.3개월)로서 PGE_1-EE alcoholic hydrogel의 220일, 27일 보다 4.2 – 4.7배 가량 증가하였다. 이는 수용액에서 매우 불안정한 PGE_1-EE를 물을 함유하지 않는 lyogel로 제제화 함으로 안정성을 증진시킨 것에 기인한 것으로 사료된다.

결 론

Prostaglandin E_1(PGE_1)의 경피흡수와 안정성을 증진시켜 외용제제로 개발하기 위해 PGE_1의 프로드럭인 PGE_1 ethyl ester (PGE_1-EE)를 주약으로 한 lyogel formulation을 제조하였으며 흰쥐와 무모마우스의 피부를 이용한 *in vitro* 경피흡수 실험을 통해 cineol과 EtOH/PG가 PGE_1의 경피흡수를 효과적으로 증진시킴을 알 수 있었다. 또한 PGE_1-EE lyogel formulation은 수고양이를 이용한 *in vivo* 효능 실험을 통해 시판 요도 주입 외용액제 보다도 더 높은 음경 해면체 내압의 상승과 hydrogel 보다 우수한 안정성을 나타냄으로써 향후 발기부전 치료용 외용제제로의 개발 가능성이 기대된다.

감사의 말씀

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업(과제번호 00-PJ1-PG4-PT01-0016)의 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1) NIH Concensus Development Panel on Impotence, NIH Consensus Conference, impotence. *JAMA* **270**, 83-90 (1993).
2) T.F. Lue, Erectile dysfunction, *N. Engl. J. Med.*, **342**, 1802-1813 (2000).
3) T. Tarcan, K.M. Azadzoi, M.B. Siroky, I. Goldstein and R.J. Krane, Age-related erectile and voiding dysfunction: The role of arterial insufficiency, *Br. J. Urol., Suppl.*, **82**, 26-33 (1998).
4) G. Williams, C.C. Abbou, E.T. Amar, P. Desvaux, T.A. Flam, G.A.B. Lycklama Nijeholt, S.F. Lynch, R.J. Morgan, S.C. M ller, H. Porst, J.P. Pryor, P. Ryan, U.K.F. Witzsch, M.M. Hall, V.A. Place, A.P. Spivack and N. Gesundheit, Efficacy and safety of transurethral alprostadil therapy in men with erectile dysfunction, *Br. J. Urol.*, **81**, 889-894 (1998).
5) H.A. Feldman, I. Goldstein, D.G. Hatzichristou, R.J. Krane and J.B. Mekinlay, Impotence and its medical and psychosocial correlates: Results of the Massachusetts male aging study, *J. Urol.*, **151**, 54-61 (1991).
6) J.E. Morlev and F.E. Kaiser, Impotence: the internist's approach to diagnosis and treatment, *Adv. Intern. Med.*, **38**, 151-168 (1993).
7) P.F. Fulgham, J.S. Cochran, J.L. Denman, B.A. Feagins, M.B. Gross, K.T. Kadesky, M.C. Kadesky, A.R. Clark and C.G. Roehrborn, Disappointing initial results with transcurethral alprostadil for erectile dysfunction in a urology practice setting, *J. Urol.*, **160**, 2041-2046 (1998).
8) R. Virag, Intracavernous injection of papaverine for erectile failure, Letter to the editor, *Lancet*, **2**, 938 (1982).
9) A.W. Zorgniotti and R.S. Lefleur, Auto-injection of the corpus cavernosum with a vasoactive drug combination for vasculogenic impotence, *J. Urol.*, **133**, 39-41 (1985).
10) F. Montorsi, G. Guazzoni, P. Rigatti and G. Pozza, Pharmacological management of erectile dysfunction, *Drugs*, **50**, 465-479 (1995).
11) M. Lakin, The evaluation and nonsurgical managment of impotence, *Semin. Nephrol.*, **14**, 544-550 (1994).
12) E.J. Keogh, Pharmacotherapy for impotence, *Current Opinion in Urology*, **4**, 363-339 (1994).
13) R.J. Krane, Editorial : Impotence, *J. Urol.*, **153**, 1841-1842 (1995).
14) D.C. Anderson and C.F. Seifert, Topical nitrate treatment of impotence, *Ann. Pharmacother.*, **27**, 1203-1205 (1993).
15) G. Cavallini, Minoxidil versus nitroglycerine : a prospective double-blind controlled trial in transcutaneous erection facilitation for organic impotence, *J. Urol.*, **146**, 50-52 (1991).
16) E.D. Kim, E.I. Rashidy and K.T. Macvary, Papaverine topical gel for treatment of erectile dysfunction, *J. Urol.*, **153**, 361-365 (1995).
17) J. Feenstra, R.J.H.M. van Drie-Pierik, C.F. Lacle and B.H.C. Stricker, Acute myocardial infarction associated with sildenafil, *Lancet*, **352**, 957-958 (1998).
18) U. Gresser and C.H. Gleiter, Erectile dysfunction: Comparison of efficacy and side effects of the PDE-5 inhibitors sildenafil, vardenafil and tadalafil - Review of the literature, *Eur. J. Med. Res.*, **7**, 435-446, (2002).
19) L.S. Palmer, M. Valcic, A. Melman, A. Giraldi, G. Wagner and G.J. Christ, Characterization of cyclic AMP accumulation in cultured human corpus cavernosum smooth muscle cells, *J. Urol.*, **152**, 1308-1314 (1994).
20) N. Ishii, H. Watanabe, C. Irisawa, Y. Kikuchi, S. Kawanura, K. Suzuki, R. Chiba and M. Tokiwa, Studies on male sexual impotence report: Therapeutic trial with prostaglandin E_1 for organic impotence, *Jap. J. Urol.*, **77**, 954-962 (1986).
21) J. Chen, M.F. Godschalk, P.G. Katz, and T. Mulligan, Incidence of penile pain after injection of a new formulation of prostaglandin E_1, *J. Urol.*, **154**, 77-79 (1995).
22) P. Schramek, R. Dorninger, M. Waldhauser, P. Konency and P. Porpzczy, Prostaglandin E_1 in erectile dysfunction: Efficiency and incidence of priapism, *Brit. J. Urol.*, **65**, 68-71 (1990).
23) W.W. Kerfoot and C.C. Carson, Pharmacologically induced erections among geriatric men, *J. Urol.*, **146**, 1022-1024 (1991).
24) M. Waldhauser and P. Schramek, Efficiency and side effect of prostaglandin E_1 in the treatment of erectile dysfunction, *J. Urol.*, **140**, 525-527 (1988).
25) M.K. Irwin and E.J. Kata, High attrition rate with intracavernous injection of prostaglandin E_1 for impotency, *Urology*, **43**, 84-87 (1994).
26) J.N. Weiss, G.H. Badlani, R. Ravelli and N. Brettschneider, Reason for high drop out rate with self injection therapy for impotence, *Int. J. Impotence Res.*, **6**, 171-174 (1994).
27) P. Ekman, L. Sj gren, G. Englund and G.E. Persson, Optimizing the therapeutic approach of transurethral alprostadil, *BJU Int.*, **86**, 68-74 (2000).
28) P. Werthman and J. Rajfer, Muse therapy: Preliminary clincal observations, *Urology*, **50**, 809-811 (1997).
29) M.T. Sheu, L.H. Lin, B.W. Spur, P.Y.K. Wong and H.S. Chiang, Investigation of the percutaneous penetration of prostaglandin E_1 and its ethyl ester, *J. Controlled Release*, **55**, 153-160 (1998).
30) H.O. Ho, M.C. Hwang, S.L. Tseng, L.H. Lin, K.T. Chen, H.S. Chiang, B.W. Spur, P.Y.K. Wong and M.T. Sheu, The percutaeneous penetration of prostaglandin E_1 and its alkyl esters, *J. Controlled Release*, **58**, 349-355 (1999).
31) H. Adach, T. Irie, F. Hirayama and K. Uekama, Stabilization of prostaglandin E_1 in fatty alcohol propylene glycol ointment by acidic cyclodextrin derivative O-carboxymethyl-ethyl-β-cyclodextrin, *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1586-1591 (1992).
32) R.G. Stehle and T.O. Oesterling, Stability of prostaglandin E_1 and dinoprostone(prostaglandin E_2) under strongly acidic and basic conditions, *J. Pharm. Sci.*, **62**, 1590-1595 (1977).
33) L.H. Lin, H.O. Ho, K.T. Chen, H.S. Chiang and M.T. Sheu, Stability of prostaglandin E_1 ethylester, *Chin. Pharm. J.*, **50**,

97-105 (1998).
34) K.K. Levision, K. Takayama, K. Isowa, K. Okabe and T. Nagai, Formulation optimization of indomethacin gels contaning a combination of three kinds of cyclic monoterpenes as percutaneous penetraton enhancer, *J. Pharm. Sci.*, **83**, 1367-1372 (1994).
35) H. Okabe, K Takayama and T. Nagai, Percutaneous absorption of ketoprofen from acrylic gel patches containing d-limonene and ethanol as absroption enhancer, *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1906-1910 (1992).
36) A.C. Williams and B.W. Barry, Terpenes and the lipid-protein-partitioning theory of skin penetraton enhancement, *Pharm. Res.*, **8**, 17-24 (1991).
37) Y. Obata, K. Takayama, Y. Machida and T. Nagai, Combined effect of cyclic monoterpenes and ethanol on percutaneous absorption of diclofenac sodium, *Drug Design Del.*, **8,** 137-144 (1991).
38) D. Kobayash, T. Matsuzawa, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, M. Kobayashi and M. Kimura, Feasibility of use of several cardiovascular agents in transdermal therapeutic systems with l-menthol-ethanol system on hairless rat and human skin, *Biol. Pharm. Bull.*, **16**, 254-258 (1993).
39) M.A. Yamane, A.C. Williams and B.W. Barry, Terpene penetration enhancer in propylene glycol/water cosolvent systems: effectiveness and mechanism of action, *J. Pharm. Pharmacol.*, **47**, 978-989 (1995).
40) J.Y. Fang, C.T. Kuo, Y.B. Huang, P.C. Wu and Y.H. Tsai, Transdermal delivery of sodium nonivamide acetate from volatile vehicles: effects of polymers, *Int. J. Pharm.*, **176,** 157-167 (1999).