

유백피 추출물을 함유한 하이드로겔 패치의 주름 억제 효과

이태완 · 김상년* · 지웅길 · 황성주†

충남대학교 약학대학, *(주)LG생활건강
(2004년 5월 3일 접수 · 2004년 5월 20일 승인)

Anti-wrinkle Effect of Pressure Sensitive Adhesive Hydrogel Patches Containing Ulmi Cortex Extract

Tae Wan Lee, Sang Nyun Kim*, Ung-Kil Jee and Sung-Joo Hwang†

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea
*LG Household & Healthcare, Jang-dong, Yuseong-gu, Taejeon 305-343, Korea
(Received May 3, 2004 · Accepted May 20, 2004)

ABSTRACT—The decreasing effect of wrinkle on the pressure sensitive adhesive hydrogel patches containing ulmi cortex extract and sorbitol as the drug for anti-wrinkle were investigated. In this study, hydrogels were prepared by the crosslinking reaction of acrylic polymers and aluminum ions produced by L(+)-tartaric acid hydrolysis of the dihydroxy aluminum aminoacetates. The inhibition concentration of ulmi cortex extract on the collagenase exhibited at 0.01%. Furthermore, the moisturizing effect of hydrogel patches formulated with sorbitol was higher than that without it. *In vivo* animal test in hairless mouse showed that the ulmi cortex-loaded hydrogel patches had about 31.2% of anti-wrinkle effect compared to blank (before attaching the patches). Human test showed that only 33% of subjects showed the decreasing of wrinkle during 8 weeks. In conclusion, the model pressure sensitive adhesive hydrogel patches in this study would be pharmaceutically applicable for the wrinkle treatment on the facial skin.

Key words—Hydrogel patch, Ulmi cortex extract, Anti-wrinkle, Collagenase, *In vivo* test, Moisturizing effect

유백피(Ulmi cortex)는 느릅나무과(Ulmaceae)에 속하는 느릅나무(*Ulmus macrocarpa* Hance)의 코르크 층을 벗긴 수피로써, 오래 전부터 민간에서 전래되어 온 전통 약물이다. 유효성분은 β -sitosterol, phytosterol, stigmasterol, tannin, resin, fat, catechin 및 catechin apioside 등으로 구성되어 있으며, collagen의 분해에 의해 몸 안에 있는 조직이 파괴되어 나타나는 위궤양, 치주 질환 및 염증 등에 치료 효과가 있다.¹⁻³⁾ 유백피는 collagen의 합성 촉진과 collagenase의 활성을 억제하는 효과가 우수하고, 사람의 섬유아세포 및 단핵세포 증식에 대한 세포독성이 없으며,⁴⁾ 유백피의 알코올 추출물은 진통, 소염 및 항균 작용이 매우 우수하다.⁵⁾ 이와 같이 유백피는 약리적 작용이 우수할 뿐만 아니라, 인체에 대한 안전성이 높기 때문에 처방약 및 일반 의약품으로 개발하기 좋은 장점이 있다.

오래 전부터 사람들은 피부의 국소 치료를 위해 피부에 적용하기 편리하고, 약효가 잘 발현될 수 있도록 여러 가지 약물을 함유하는 연고, 로션 또는 크림 등과 같은 국소용 제

제를 꾸준히 연구 개발해 왔다. 희랍시대에 돈지와 산화납을 배합한 plaster를 이용하여 약물을 피부에 전달한 것을 비롯하여, corticosteroids를 이용한 피부 염증의 치료,⁶⁾ ketoconazole과 같은 항진균제를 사용한 피부 진균 감염증의 치료⁷⁾ 및 genetic acid를 이용한 기미 치료 등이 연구되었고,⁸⁾ 국소 마취를 위해 lidocaine 등의 활성성분을 경피에 송달하는 시스템이 연구되었다.⁹⁾

하이드로겔은 수용성 고분자의 homopolymer나 copolymer 들이 물리 화학적으로 가교 결합되어 있는 3차원 그물망 구조의 불용성 물질로써,^{10,11)} 생체 조직과 유사하게 수분이나 생체액을 다량 함유할 수 있어,^{12,13)} 다른 합성 생체 물질보다 부드럽고 생체적합성이 뛰어나기 때문에 의료 및 제약 분야에 약물송달시스템으로써 널리 연구되어 왔다.¹⁴⁾ 또한, 약물이나 생리활성 물질을 전달하고자 하는 위치에서 약물의 체류시간을 지속시킬 수 있어 위장, 결장, 질, 코의 점막 및 신체 부위 등의 서방형 제제로 응용되어 왔다.¹⁵⁾

최근 하이드로겔의 특성을 응용하여 국소이용율이 높은 새로운 topical dosage form으로써, 아크릴계 고분자와 Al^{3+} 의 가교반응으로 형성된 점착성 하이드로겔에 약물이 matrix 형태로 함유된 여드름 치료용 하이드로겔 패치의 제형화 연

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : (042)821-5922, E-mail : sjhwang@cnu.ac.kr

구가 보고되었다.¹⁶⁾ 이러한 압력 감응형 점착성 하이드로겔 패치는 하이드로겔 자체의 3차원 그물망 구조가 국소부위에서 약물의 저장소 역할을 하여 일정한 농도로 약물을 피부에 지속적으로 전달시킬 수 있으며, 다량의 수분을 함유하고 있어 보습력이 우수한 제제이다. 또한, 경피흡수촉진제와 함께 난용성 약물의 가용화가 쉬우며, 적당한 점착력을 가지고 있어 피부에 쉽게 붙일 수 있고, 떼어낼 때 통증이 없으며, 피부에 잔유물이 남지 않는 등의 국소용 제제로서 좋은 특성을 가지고 있다.

본 연구자들은 하이드로겔 패치 자체의 보습력을 증진시키고, collagenase의 활성 억제제로써 유백피 추출물을 함유하는 압력 감응형 하이드로겔 패치를 제조하여, 이에 대한 보습력 측정, *in vivo* 동물시험 및 human test를 통하여 피부 노화의 가장 두드러진 현상인 주름의 여러 형성 기전 중에서 피부의 건조 방지와 collagen 분해를 억제시킴으로서, 얼굴의 주름을 완화시키는 국소용 제제로서의 약제학적 응용가능성을 검토하였다.

실험 방법

시약

Polyacrylic acid는 Nihon Junyaku Co. (Japan)에서 제공 받았고, sodium polyacrylate 및 dihydroxy aluminum aminoacetate는 Showa Denko Chemical Co. (Japan)에서 구입하였다. Collagenase의 활성 억제제인 유백피 추출물은 에탄올로 추출하여 사용하였고, 경피흡수촉진제로서 Transcutol CG® (diethylene glycol monoethyl ether)는 Gattefosse Co. (France)로부터 구입하였다. Glycerin 및 sorbitol은 LG생활건강 (Korea), sodium carboxymethylcellulose는 고제화학 (Korea)에서 구입하였다. 또한, 기타 모든 시약들은 특급 및 1급 시약을 사용하였다.

실험동물

약물의 *in vivo* 주름 완화 시험에 사용한 동물은 6~10주령의 건강한 암컷 무모 쥐(SKH)로써, (주)LG생활건강 기술 연구원에서 구입했으며, 사육 조건은 온도 20~25°C, 명암 교대 시간은 12시간(실내 형광등/09:00~21:00)을 유지하였고, 실험 중을 제외하고는 고형사료와 물을 충분히 공급하였다.

유백피의 추출

대구시 약령 거리에서 구입한 유백피 (지리산 기슭에서 채집)를 10~200 mesh로 분쇄하여 100% ethanol과 1:5 (w/v)로 혼합하고 상온에서 72시간 동안 냉침을 한 후, 여과지

(Whatman paper No. 2)로 여과하였다. 여과액을 감압 농축기로 45°C에서 농축하여 유백피 추출물을 얻었다.

Collagenase 활성 억제 실험

유백피 추출물의 collagenase 활성 억제 효과는 collageno Kit (CLN-100, Japan)를 사용하여 평가하였다. 1.5 ml Eppendorf tube에 0.05%의 FITC-Collagen 200 µl를 각각 첨가하였다. 1개의 Eppendorf tube는 blank로 사용하고, 3개의 Eppendorf tube에는 효소의 표준 활성도 곡선을 작성하기 위하여, 표준 효소 용액인 Collagenase Type I (Karl Biochem.)을 각각 10 ppm, 100 ppm 및 200 ppm이 되도록 첨가하였다. 다른 각각의 Eppendorf tube에는 표준 효소 용액 100 µl와 유백피 추출물을 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.05% 및 0.07%가 되도록 첨가하고, 또한 대조약인 doxycycline을 유백피 추출물과 동일 함량으로 첨가하였다. 완충용액 (0.05 M Tris-HCl, 1 mM CaCl₂, pH 7.8)을 총 반응액이 500 µl가 되도록 첨가한 후, 37°C 항온조에서 18시간 동안 반응을 시켰다. 반응 중지액으로 80 mM의 o-phenanthroline (50% ethanol에 용해)을 10 µl 첨가하여 잘 혼합한 후, 37°C 항온조에서 1시간 동안 유지한 후 냉각시켰다. 70%의 ethanol을 0.5 ml 첨가한 후, Eppendorf tube를 3,000 rpm에서 10분 동안 원심 분리시키고, 각 tube로부터 500 µl의 상등액을 취하여 520 nm (EM)/495 nm (EX)에서 형광강도를 분광형광광도계로 측정하였다.

보습제의 수분 보유능 측정

보습성분으로 잘 알려진 glycerin, dipropylene glycol, propylene glycol, 1,3-butylene glycol 및 sorbitol에 대한 수분 보유능을 측정하기 위해, 각각의 시료를 50% 수용액으로 제조하였다. 약 5g의 시료를 취하여 50°C에서 200분 동안 Halogen moisture analyzer H53 (Mettler-Toledo Co. Swiss)을 사용하여 함량이 될 때까지 수분 함량을 측정하였다.

하이드로겔 패치의 제조

압력 감응형 점착성 하이드로겔 패치는 Lee 등의¹⁶⁾ 제조방법에 따라 Table I의 처방으로 제조하였다. Methyl paraben, 유백피 추출물 및 PEG-40 hydrogenated castor oil을 경피흡수촉진제인 Transcutol CG®에 완전히 용해시키고, 서서히 교반하면서 glycerin을 첨가하여 균일상이 될 때까지 혼합한 후, dihydroxy aluminum aminoacetate, sodium carboxymethylcellulose, sodium polyacrylate 및 색소를 분산시켜 phase A를 제조하였다. L(+)-tartaric acid를 정제 이온수에 용해시키고, sorbitol과 polyacrylic acid를 첨가 용해하여 균

Table I—The % Inhibition Effects of Drugs on Collagenase Activity (unit: %)

Phases	Ingredients	R ₁	R ₂	R ₃
A	Methyl paraben	0.1	0.1	0.1
	Transcutol CG®	1.0	1.0	1.0
	Ulmi cortex extract	—	0.1	—
	PEG-40 hydrogenated castor oil	0.3	0.3	0.3
	Glycerin	25.0	25.0	25.0
	TiO ₂	0.2	0.2	0.2
	Dihydroxy aluminum aminoacetate	0.2	0.2	0.2
	Sodium polyacrylate	3.0	3.0	3.0
	Sodium carboxymethylcellulose	3.0	3.0	3.0
B	L(+)-Tartaric acid	0.2	0.2	0.2
	Polyacrylic acid	2.0	2.0	2.0
	Sorbitol	10.0	10.0	—
	Deionized water	55.0	54.9	65.0

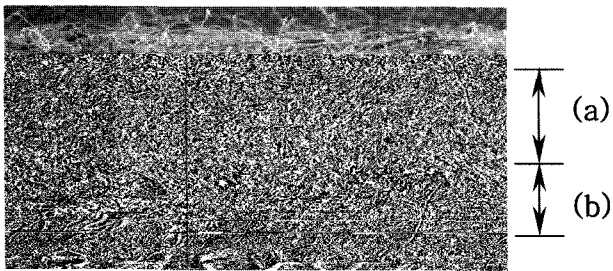


Figure 1—Cross-sectional structure of hydrogel patch with permeable backing layer (a) and hydrogel layer containing drugs (b). The magnification was 80 times.

일상의 phase B를 제조하였다. 기포가 생기지 않도록 phase B를 phase A에 서서히 첨가하면서, 약 60 rpm의 속도로 혼합하여 균일상의 겔을 제조한다. 한쪽 면이 실리콘으로 이형 처리된 폴리프로필렌 필름의 위에 자체 제작한 doctor blade를 사용하여, 제조한 겔을 1 mm 두께로 전연한 후, 평량이 100 g/m²인 폴리에스테르 부직포로 편평하게 덮어 씌우고, 부직포의 표면을 roller (직경 10 cm, 길이 25 cm, 무게 3.2 kg)로 2회 왕복하여 판상의 하이드로겔 패치를 제조하였다. 제조된 패치는 일정한 크기로 잘라서, 하이드로겔에 함유되어 있는 수분이 증발되지 않도록 알루미늄 포장지에 넣고, 열 접착기를 사용하여 공기가 통하지 않도록 포장지 입구를 접착하여 Figure 1과 같은 압력 감응형 점착성 하이드로겔 패치를 제조하였다.

보습효과의 측정

11명의 건강한 성인 여성을 대상으로 팔의 상박 내측에 하이드로겔 패치를 10×10 mm 크기로 절단하여, 직경 12 mm의 fin chamber와 hill top chamber의 tape을 이용하여 붙이고, 3시간 후에 패치를 제거하여, 20분 후에 각질층의 수분함량을 Skin hygrometer (Skicon-200, IBS Co., Japan)로 측정하였으며, 패치를 제거한 2시간 이후에 보습효과를

재측정하였다. 초기값을 100으로 놓고, 패치 제거 후의 측정값을 상대값으로 환산하여 유백피 추출물을 함유한 패치와 t-test를 하여 $p < 0.01$ 을 유의한 차이로 분석하였다. 모든 시험은 50% RH, 25°C의 항온 항습실에서 실행하였다.

In Vivo 동물시험

Fujimura의 방법¹⁷⁾에 따라 6주령의 암컷 무모 쥐 (type SKH) 23마리의 등판에 0.2 μg의 1α, 25-dihydroxyvitamin D3를 1일에 1회 씩 4주 동안 도포하여, 인위적으로 주름을 유발시키고, 효과의 객관적 평가를 위하여 시험할 부위의 주름 형태를 실리콘 고분자로 주름 주형을 만들었다. 사용된 주형의 재료는 실리콘 고분자인 Provil® (Heraeus Kulzer Inc., South Bend, IN)로 Provil®의 기체 및 경화제를 1:1 부피 비로 혼합하여 사용하였고, 약 10분 후 주형을 피부에서 제거하였다. 주름이 생성된 무모 쥐를 2그룹으로 분류하여, 주름 완화용 하이드로겔 패치 R₁ 및 R₂를 하루에 6시간 씩 무모 쥐 등판의 주름 위에 붙여 4주 후에 주름의 변화를 영상 분석법을 이용하여 Corcuff 등의 방법¹⁸⁾에 따라 측정하였으며, 획득한 영상 중에서 가장 큰 주름을 선택하여 Image-Pro Software인 Ultimage (USA)로 주름의 면적을 분석하였다. 통계처리는 t-test를 사용하였고, $P < 0.01$ 의 유의 수준에서 분석하였다.

Human Test

외견상 전신적 질환이 없는 40~50세의 건강한 여성 10명을 대상으로 8주동안 시험하였다. 시료는 in vivo 동물시험

Table II—Standard Grades of the Wrinkle

Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4	Grade 5

Table III—The % Inhibition Effects of Drugs on Collagenase Activity

(unit: %)

Concentrations of drugs	0.01	0.02	0.03	0.05	0.07
Ulmi cortex extract	27.61±1.44	44.40±2.49	76.57±2.68	88.62±0.62	88.75±0.11
Doxycycline	0	56.08±2.52	80.18±2.06	98.89±0.49	94.28±2.50

에서 사용한 동일 처방의 주름 치료용 하이드로겔 패치 R₁ 및 R₂를 취침 전 좌우의 눈 밑에 붙이고, 취침 후 아침에 떼어 내도록 하였다.

결 과

Collagenase의 활성 억제

Collagenase의 활성 억제 시험은 형광 물질인 fluorescein-isothiocyanate (FITC)와 conjugated collagen Type I에 collagenase를 첨가한 후, 생성되는 collagen을 변형시켜 형광강도 (FI)를 측정하는 방법으로 collagenase의 activity는 다음식에 의하여 산출하였으며, 그 결과는 Table III에 나타내었다.

$$\text{효소 활성 억제율(\%)} = \frac{\text{실험군의 효소 활성도}}{\text{Blank의 효소 활성도}} \times 100$$

유백피 추출물과 doxycycline의 농도가 증가함에 따라 collagenase 활성 억제 효과가 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, 유백피 추출물은 0.01%의 저 농도에서 대조약인 doxycycline 보다 우수한 collagenase 활성 억제 효과를 나타냈다.

보습제의 선정

일반적으로 잘 알려진 보습제들은 본 연구에서의 하이드로겔 패치를 제조할 때 가소제로 병행하여 사용할 수 있는 큰 이점이 있다. 결국, 우수한 보습 효과를 나타내는 보습제를 선택하여 가소제로 첨가할 경우, 보습효과가 뛰어난 하이드로겔 패치를 제조할 수 있었다.

5종의 보습제에 대한 보습효과는 보습제 자체의 수분 보유능으로 평가하였으며, 그 결과는 Figure 2에 나타내었다. 실험 결과 수분 보유능은 sorbitol이 가장 높았으며, glycerin, 1,3-butylene glycol, dipropylene glycol의 순으로 나타났다. propylene glycol은 효과가 거의 없었다.

따라서, 수분 보유능이 가장 우수한 sorbitol을 주름 완화용 하이드로겔 패치에 처방할 경우 우수한 보습효과를 기대할 수 있을 것으로 나타났다.

보습효과 비교

약물 및 보습제의 선정 시험 결과에 따라 설계한 주름 치료용 하이드로겔 패치의 보습효과는 Table IV에 나타내었다.

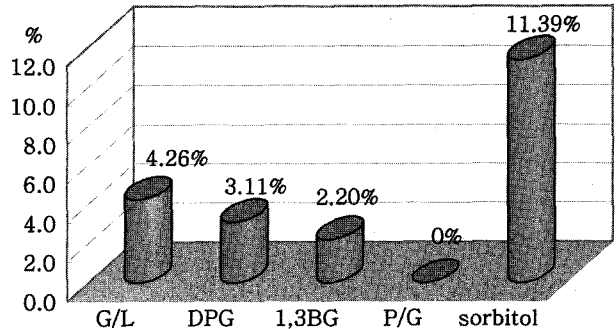


Figure 2—Water retaining effect of humectants. The humectants were glycerin (G/L), dipropylene glycol (DPG), 1,3-butylene glycol (1,3-BG), propylene glycol (P/G) and sorbitol.

Table IV—Moisturizing Effect of Hydrogel Patches for Antiwrinkle

Formulations	Before	After 3 hr	After 5 hr
Blank	91.0 (100)	168.4 (185)	101.7 (111)
R ₁	91.2 (100)	390.2 (427)	227.2 (249)
R ₂	90.3 (100)	407.2 (451)	261.3 (289)
R ₃	92.0 (100)	365.0 (397)	169.3 (184)

The values in parentheses exhibited that the initial data were exchanged to 100.

전반적으로 하이드로겔 패치는 blank에 비해 뛰어난 보습효과를 나타내었으며, 특히 sorbitol을 함유한 패치인 R₁ 및 R₂의 보습효과는 R₃ 보다 우수하게 나타났다($p < 0.01$). Sorbitol과 같이 구조적으로 수산기(-OH)를 많이 가지고 있는 화합물이 피부 표면에 잔류할 경우, 피부 속이나 대기중의 수분과 결합하여 수분 증발을 억제함으로써, 보습 효과를 나타내는 것으로 추정된다.

또한, 패치를 떼어낸 직 후에 상대적으로 높은 보습효과가 나타나는 현상은 첩포 상태에서 피부의 swelling에 의한 영향으로 추측된다.

In Vivo 동물시험

시험 시작 전에 무모 쥐의 주름의 면적은 2125±203이었으며, 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃를 처리하여 주름을 유발시킨 후, 측정된 주름의 2차원 면적은 2874±173으로 약 32.5%의 주름이 더 생성되었다. 4주 동안 하이드로겔 패치를 무모 쥐의 등판에 첩포한 후의 주름 면적을 Figure 3에 나타내었다. 보습력을 증진시키고, 유백피 추출물이 함유되지 않은 패치(R₁)로 처리한 경우의 주름의 면적은 2609±

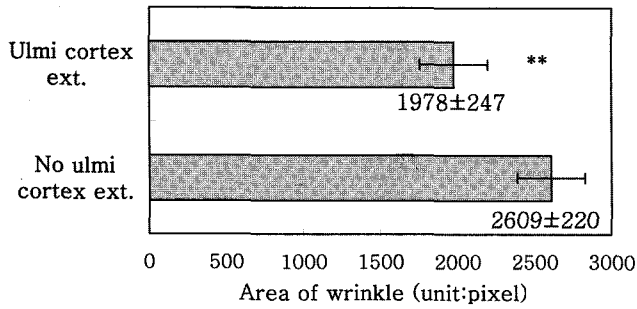


Figure 3—The area of wrinkle after *in vivo* animal test (** $p < 0.01$, $n = 23$).

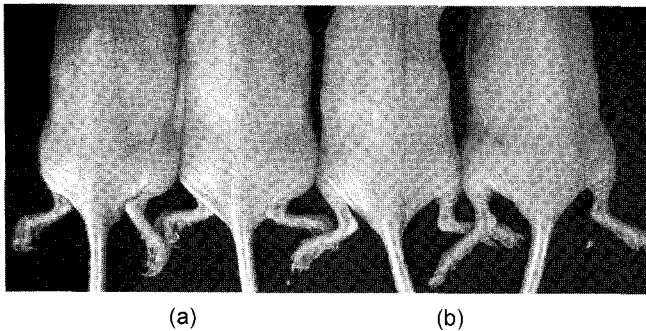


Figure 4—Picture of wrinkle on hairless mouse treated hydrogel patch without (a) and with (b) ulmi cortex extract.

220으로 약 9.3%가 감소하였으며, 유백피 추출물이 함유된 패치(R₂)를 처리한 경우에는 1978±247으로 약 31.2% 감소하였다($p < 0.01$). 이상의 실험 결과 보습 효과 만으로도 주름 개선 효과를 확인할 수 있었으며, 유백피 추출물의 주름 감소 효과는 더욱 우세하게 나타났다. 주름의 감소 효과는 무모 쥐의 각 개체 마다 약간씩 차이가 있었으나, 가장 객관적으로 분석된 무모 쥐의 주름 감소 사진을 Figure 4에 나타내었다.

Human Test

주름 개선 효과는 자체의 시험방법에 따라 전문가의 육안으로 평가하였으며, 임의의 기준을 Table II와 같이 5 등급으로 분류하여 초기, 2주, 4주, 6주 및 8주 동안 주름의 변화를 관찰하였다.

육안에 의한 주름 평가 결과는 Figure 5에 나타내었다. 유백피 추출물을 함유한 하이드로겔 패치(R₂)에 대해서는 사용 전 평균 grade 2.8에서 grade 2.2로 낮아져, 약 22%가 호전되었으며, 유백피 추출물을 함유하지 않은 패치에서는 grade 3.0에서 grade 2.7로 약 10%가 호전되는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 따라서, 주름을 완화시키는 여러 기전 중에서 유백피 추출물은 collagenase의 활성을 저해시켜, collagen의 분해 억제에 기여하는 것으로 추측된다.

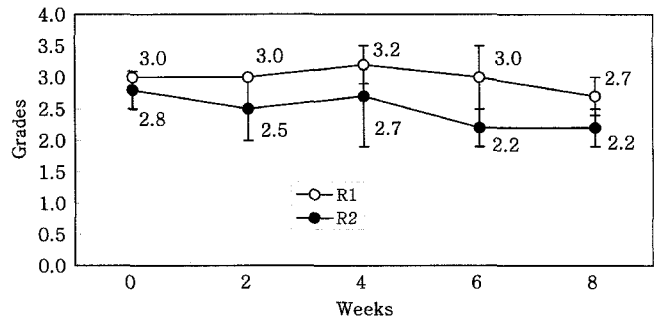


Figure 5—Decreasing effect of wrinkle in human test. R₁ and R₂ were the hydrogel patch without and with ulmi cortex extract respectively.

그러나, 모든 시험자가 하이드로겔 패치 적용에 따라 주름 감소 효과를 보인 것은 아니다. 본 연구에 참여한 10명 중 9명에 대해서 8주간 시험을 진행하였으며, 약 33%에 해당하는 3명에서 효과를 나타내었고, 1명은 2주까지 시험에 참여 하여 평가 결과에서 제외시켰다.

또한, 평가 완료 후 피시험자가 느끼는 주름 개선 정도에 대한 설문 결과 품질만족도는 4.1점/5.0점으로 9명 모두 호전을 보인 것으로 느끼고 있었다.

주름은 오랜 시간을 통해서 형성되고, 발생 기전 또한 정확히 밝혀 지지 않아 본 연구에서 시도한 연구 결과로 모든 피시험자들을 만족시킬 수 없었으나, 하이드로겔의 보습효과와 collagenase의 활성 억제제인 유백피를 약물층으로 하는 하이드로겔 패치로 주름을 치료할 수 있는 가능성을 확인하였다.

고찰

하이드로겔은 약물층을 이루는 가장 중요한 요소로써, 적당한 접착력을 가지며, 떼어낼 때 피부에 달라 붙지 않는 기본적인 특성을 유지해야 한다. 일반적으로 하이드로겔은 고분자, 가교제, 다량의 물, 가소제 및 보조고분자를 부분적으로 선택하여 제조하는데, 특히, 반응 전과 후의 점도 변화가 매우 크기 때문에 제조 공정 중에 일정한 점도를 유지시킬 수 있도록 가교 반응 속도를 조절하는 기술이 요구되며, 가교제의 선택에 따라 가교 반응 속도를 조절하는 방법이 달라지게 된다. 수용성 다가 금속염을 가교제로 사용할 경우에 가교 반응 속도를 지연시키기 위해 저분자량의 아크릴계 금속염과 가교제와의 착염을 제조한 후, 고분자에 첨가하여 가교 반응 속도를 조절하는 방법이 있다.¹⁹⁾

본 연구에서의 가교제는 물에서 쉽게 해리되지 않는 난용성 다가 금속 염인 dihydroxy aluminum aminoacetate를 산촉매에 의해 서서히 Al³⁺을 해리시켜 아크릴계 고분자와 가

교 반응을 시키는 방법으로 연구하였으며, 천연 시 겔의 점도, 표면의 균일성 및 이수현상 등이 나타나지 않는 것으로 보아, 본 처방 시스템은 압력 감응형 점착성 하이드로겔 패치의 제조에 우수한 가교 반응 시스템으로 사료된다.

한편, 주름의 생성원인은 정확히 알려지고 있지 않으나, 피부 노화를 촉진시키는 주요 요인 중의 하나는 태양광의 자외선으로, 임상실험을 통한 광노화기전이 잘 알려져 있다.²⁰⁻²²⁾ 자외선에 장시간 노출된 피부는 각질층이 두꺼워지고 collagen이나, elastin이 변성되어 피부가 탄력성을 잃게 된다. 진피의 extracellular matrix (ECM)의 대부분을 차지하는 collagen의 생성이 저하되고, 자외선에 의해 collagenase와 같은 matrix metalloprotease (MMP)의 발현에 의해 collagen의 분해가 증가되어 collagen의 함량이 줄어들게 되어, 피부의 표피가 쭈글 쭈글해지고, 건조하고 거칠어지면서 주름이 나타나게 된다. 또한, 진피의 주 구성세포인 섬유아세포의 증식이 감소하게 되어 세포간 신진대사가 원활하지 못하거나, 외부의 유해인자에 대한 방어능이 낮아져, 피부노화를 촉진시키게 된다.²³⁾ 이러한 피부 노화를 억제시키는 약물에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔는데, 1988년에 Weiss는 retinoic acid가 노화된 피부의 거칠음 및 잔주름을 완화시키는 효과가 있는 것으로 보고하였으며,²⁴⁾ retinol, retinyl palmitate 등의 vitamin A류 및 그의 유도체는 피부 내의 섬유아세포를 증식시키고, collagen의 합성을 증진시켜 주름을 완화시키는 것으로 알려져 있으며,²⁵⁻²⁸⁾ glycolic acid 등의 AHAs (α -hydroxy acids)는 피부의 각질을 얇게 벗겨냄으로써 각질층의 turn over를 빠르게 하여 새로운 각질이 피부를 구성하여 피부 주름을 개선하는 것으로 알려져 있다.^{29,30)} 또한, 각질층의 수분 함량을 유지시키기 위해 피부 보습성분으로 잘 알려진 polyol이나 sodium lactate 등의 천연보습인자들이 사용되며, hyaluronic acid나 collagen 같은 생체고분자물질 등이 이용되고 있다.

본 collagenase의 활성 억제 실험에서 대조약으로 선정한 doxycycline은 골격근에서 collagen을 분해하는 matrix metalloprotease (MMP)의 활성억제제로 잘 알려져 있으며,^{31,32)} 유백피 추출물은 대조약 보다 저농도에서도 우수한 collagenase 활성 억제 효과가 나타나, 콜라겐의 분해를 방지할 수 있는 약물임을 확인할 수 있었다.

또한, *in vivo* test 및 human test에서 나타난 주름 개선 효과는 매우 만족스러운 수준은 아닐지라도, 주름의 다양한 생성 기전 중에서 보습효과와 collagenase 활성 억제 효과에 기인하는 것으로 추정할 수 있었으며, 앞서 연구 보고된 하이드로겔 패치의 약물 피부잔류 및 투과 특성을 고려할 때 본 연구에서 설계한 압력 감응형 점착성 하이드로

겔은 국소용 제제로써 약제학적 응용 가능성이 높은 것으로 평가되었다.

결 론

Topical dosage form으로써 아크릴계 고분자와 다가 금속염을 사용하여 압력 감응형 점착성 하이드로겔 기제를 제조하였고, 피부 병변의 일종인 주름 억제에 유용한 약물을 matrix 형태로 설계하여 약제학적 응용 가능성을 연구하였다.

주름 생성의 원인인 피부의 건조와 collagen의 분해를 방지할 목적으로 보습력 증진 및 collagenase 활성 억제 실험을 하였으며, 무모 쥐를 이용한 동물실험과 human test를 통하여 그의 약제학적 효능을 검증한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 주름 치료용 약물로 선정된 유백피 추출물의 collagenase 활성 억제 농도는 0.01%로 대조약인 doxycycline 보다 낮은 농도에서 나타났으며,
2. 수분 보유능 측정 결과, 수분 보유능이 가장 우수한 것으로 나타난 sorbitol을 처방하여 하이드로겔 패치의 보습력을 향상시킬 수 있었다.
3. *In vivo* 동물실험에서 유백피 추출물을 함유한 하이드로겔 패치의 주름 감소 효과는 약 31.2%이었다.
4. 유백피를 함유한 하이드로겔 패치에 대해 8주 동안 실험한 human test 결과, 약 33%의 피시험자에서 주름 개선 효과를 관찰할 수 있었다.

이상의 결론을 종합해 보면, 피부 노화의 대표적인 현상인 주름의 다양한 생성 기전 중 collagenase 활성 억제제인 유백피 추출물과 sorbitol을 matrix 형태로 처방화한 압력 감응형 점착성 하이드로겔 패치는 얼굴의 주름을 치료하는 새로운 국소제제로써 약제학적 응용 가능성이 높은 것으로 평가되었다.

문 헌

- 1) H.J. Ji and S.I. Lee, *The Korean Herbal Pharmacopoeia*, Korea Food and Drug Administration, pp. 295 (2002).
- 2) C.M. Kim, M.K. Shin, D.K. Ahn and K.S. Lee, *Dictionary of Chinese Medicines*, Jeong Dam Press, 7, pp. 4319-4321 (1998).
- 3) B.H. Son, J.H. Park and O.P. Jee, Catechin glycoside from *ulmus davidiana*, *The Pharm. Soc. Kor.*, Abstracts (38th), pp. 193 (1989).
- 4) S.S. No, Experimental study on the anti-inflammatory and wound healing effect of *ulmus parvifolia*, *Research Institute of Korean Medicine Thesis Collection*, Taejeon University,

- 7, 837-852 (1998).
- 5) N.D. Hong, Y.S. Rho, N.J. Kim and J.S. Kim, A study on efficacy of ulmi cortex, *Kor. J. Pharmacogn.*, **21**, 217-222 (1990).
- 6) Y.T. Sohn and S.Y. Kim, Effect of crystal form on *in vivo* topical anti-inflammatory activity of corticosteroids, *Arch. Pharm. Res.*, **25**, 556-559 (2002).
- 7) L.K. Pershing, J. Corlett and C. Jorgensen, *In vivo* pharmacokinetics and pharmacodynamics of topical ketoconazole and miconazole in human stratum corneum, *Agents. Chemother.*, **38**, 90-95 (1994).
- 8) S. Bian, J. Zheng, J.S. Kim, M.J. Choi and H.K. Chung, *In vitro* and *in vivo* studies of topical delivery system of gentisic acid in hairless mice, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **32**, 161-164 (2002).
- 9) M. Carafa, E. Santucci and G. Lucania, Lidocaine-loaded non-ionic surfactant vesicles: characterization and *in vitro* permeation studies, *Int. J. Pharm.*, **231**, 21-32 (2002).
- 10) N.A. Peppas and E.W. Merrill, PVA hydrogels; Reinforcement of radiation-crosslinked networks by crystallization, *J. Polym. Sci. Polym. Chem., Ed.*, **14**, 441-457 (1976).
- 11) S.R. Stauffer and N.A. Peppas, Poly (vinyl alcohol) hydrogels prepared by freezing-thawing cyclic processing, *Polymer*, **33**, 3932-3936 (1992).
- 12) N.A. Peppas and A.G. Mikos, Preparation methods and structure of hydrogels : In *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, Vol. 1, N.A. Peppas (Eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 1-27 (1986).
- 13) L. Brannon-Peppas, Preparation and characterization of crosslinked hydrophilic networks : In *Absorbent Polymer Technology*, L. Brannon-Peppas, R.S. Harland (Eds.), Elsevier, Amsterdam, pp. 45-66 (1990).
- 14) J. Kost and R. Range, Properties and applications : In *Hydrogels in medicine and pharmacy*, Vol. 3, N.A. Peppas (Eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 95-186 (1986).
- 15) Y. Huang, W. Leobandung, A. Foss and N.A. Peppas, Molecular aspects of muco- and bio-adhesion: Tethered structure and site-specific surfaces, *J. Controlled Release*, **65**, 63-71 (2000).
- 16) T.W. Lee, J.C. Kim and S.J. Hwang, Hydrogel patches containing triclosan for acne treatment, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **56**, 407-412 (2003).
- 17) T. Fujimura, S. Moriwaki, Y. Takema and G. Imokawa, Epidermal change can alter mechanical properties of hairless mouse skin topically treated with 1, 25-dihydroxyvitamin D3, *J. Dermatol. Sci.*, **24**, 105-111 (2000).
- 18) P. Corcuff, J. Rigal and J.L. Leveque, Skin relief and aging, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **34**, 177-190 (1983).
- 19) T.W. Lee and Y.H. Choi, Hydrogel composition, *K.P. 2000-0012760A* (2000).
- 20) H.M. Daniel, A study in the epidemiology of "crows feet," *Ann. Intern. Med.*, **75**, 873-880 (1971).
- 21) M.J. Grove and J.J. Leyden, Optical profilometry: An objective method for quantification of facial wrinkles, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **21**, 631-637 (1989).
- 22) C.E. Griffiths, T.S. Wang, T.A. Hamilton and J.J. Voorhees. A photometric scale for the assessment of cutaneous photodamage, *Arch. Dermatol.*, **128**, 347-351 (1992).
- 23) H.H. Kang, Anti-aging in cosmetics, *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.*, **23**, 57-74 (1997).
- 24) J.S. Weiss, C.N. Ellis and J.T. Headington, Topical tretinoin improves photo aged skin, A double blind vehicle-controlled study, *J. Am. Med. Assoc.*, **259**, 527-532 (1998).
- 25) E. Schwartz, F.A. Cruickshank, J.A. Mezick and L.H. Kligman, Topical all-trans retinoic acid stimulates collagen synthesis *in vivo*, *J. Invest. Dermatol.*, **96**, 975-978 (1991).
- 26) J. Varani, J. Shayevitz, D. Perry, R.S. Mitra, B.J. Nickoloff and J.J. Voorhees, Retinoic acid stimulation of human dermal fibroblast proliferation is dependent on suboptimal extracellular Ca²⁺ concentration, *Am. J. Pathol.*, **136**, 1275-1281 (1990).
- 27) J. Varani, R.S. Mitra, D. Gibb, S.H. Phan, V.M. Dixit and R.S. Mitra Jr., All-trans retinoic acid stimulates growth and extracellular matrix production in growth-inhibited cultured human skin fibroblasts, *J. Invest. Dermatol.*, **94**, 717-723 (1990).
- 28) D.S. Rosenthal, D.R. Roop, C.A. Huff, J.S. Weiss, C.N. Ellis, T. Hamilton, J.J. Voorhees and S.H. Yuspa, Changes in photo-aged human skin following topical application of all-trans retinoic acid, *J. Invest. Dermatol.*, **95**, 510-515 (1990).
- 29) R. Hermitte, Aged skin, retinoids and alpha hydroxy acids, *Cosmet. Toil.*, **107**, 63-67 (1992).
- 30) C.M. Ditre, T.D. Griffin, G.F. Murphy, H. Sueki, B. Telegan, W.C. Johnson, R.Y. Yu and E.J. Van Scott, Effects of -hydroxy acids on photoaged skin: A pilot clinical, histologic and ultrastructural study, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **34**, 187-195 (1996).
- 31) D.M. Roach, R.A. Fitridge, P.E. Laws, S.H. Millard, A. Varelias and P.A. Cowled, Up-regulation of MMP-2 and MMP-9 lead to degradation of type collagen during skeletal muscle reperfusion injury: Protection by the MMP inhibitor, doxycycline, *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, **23**, 260-269 (2002).
- 32) S. Lamparter, S.H. Slight and K.T. Weber, Doxycycline and tissue repair in rats, *J. Lab. Clin. Med.*, **139**, 295-302 (2002).