

Clofibrate의 연고기제에 의한 피부투과 특성

정택채[†]

[†] 시립인천대학교 자연과학대학 화학과
(2007년 1월 12일 접수 : 2007년 5월 29일 채택)

Skin Penetration Characteristics by Ointment Bases of Clofibrate

Duck-Chae Jung[†]

[†] Department of Chemistry, In Cheon University, Incheon 402-749, Korea
(Received Jan. 12, 2007 ; Accepted May. 29, 2007)

Abstract : Transdermal Delivery System(TDS) is often used as a method of drug dosage into the epidermic skin. Compared with other method of dosage, it is possible to use for a long term. It is also possible to stop the drug dosage are stopped if the drug dosage lead to side effect. Polysaccharide, such as chitosan and algin were selected as base materials of TDS. Also, these polymers were characterized in terms of enhancers, drug contents. Among these polysaccharide, the permeation rate of chitosan base was fastest in clofibrate such as lipophilic drug *in vitro*. We used glycerin, PEG and oleic acid as enhancers. Since dermis has more water content(hydration) than the stratum corneum, skin permeation rate at steady state was highly influenced when PEG was more effective for lipophilic drug. Proper selection of the polymeric materials which resemble and enhance properties of the delivering drug was found to be important in controlling the skin permeation rate. Especially, this result suggests a possible use of polysaccharide ointment base as a transdermal delivery system of antihyperlipoproteinemic agent.

Key words : *clofibrate, skin penetration, ointment, enhancer, polysaccharide*

1. 서론

약물방출 조절 시스템(Drug Delivery System, DDS)이란 종전의약품 투여의 단점을 개선하여 최상의 약효를 획득하는 것을 말한다. DDS 응용법 중에서 가장 각광 받는 분야가 피부를 통해 약물을 투여하는 경피투과 방식(Transdermal Delivery System, TDS)이다[1]. TDS의 경우 약물에 대한 위장관내 부담감 해

소, 거부감 감소 및 간에서의 초회통과 효과(first-pass effect)를 피할 수 있으며 장기간 투여가 가능하고 부작용이 나타나면 즉시 투여를 중지할 수 있는 장점 때문에 최근에 전신 치료의 목적으로 피부에 약물을 적용하고 있다 [2-5]. TDS의 이러한 장점 때문에 많은 연구가 이루어지고 있으나 다량의 투여가 필요한 약물, 제제가 피부에 자극이 있는 경우, 약물이 피부 내에서 대사 되는 경우 및 약물의 크기가 커서 분자 확산이 불가능한 경우에는 경피투과제제로서 이용이 불가능하다는 단점도 있다. TDS

[†] 주저자 (e-mail : dcjung@ incheon.ac.kr)

를 이용한 개발 대상 약물로는 고혈압치료제, 항히스타민제, 소염제, 진통제, 호르몬제 및 피임약 등이 속하는데 이러한 부분과 관련하여 연구가 각 분야에서 활발히 진행되고 있으며 특히 투과촉진제에 대한 연구가 많이 보고되고 있다[6,7]. 피부의 가장 큰 역할은 이물질의 침입이나 체내로부터 수분 증발을 막는 장벽으로서 작용하는 것이므로 일반 생체막에 비하여 투과성이 낮고 유효혈중농도를 유지할 수 있을 만큼 충분한 속도와 양의 흡수가 이루어지는 약물은 그리 많지 않다. 그러므로 피부투과제의 가장 큰 장벽인 각질층에 영향을 주어 약물의 투과도를 증진시키고 지연시간(lag time)을 단축시킬 목적으로 투과촉진제를 사용하며 일반적으로 sulfoxide, azone, urea 및 glycol 유도체 등이 사용되고 있다[8]. 경피투과제제는 피부에 직접 적용시키기 때문에 피부에 적용되었을 때 피부자극 및 홍반 유무 등의 부작용을 일으키지 않는 재료를 선택하는 것이 중요하다.

본 연구에서는 DDS를 응용한 TDS를 제조하고자 약물 방출조절 기재로서 천연다당류를 이용하고 항고지단백혈중제제인 clofibrate와 혼합하여 기재의 종류, 약물의 함량 및 투과촉진제의 종류를 변화시키면서 경피투과제제를 제조하고 실험 동물인 랫드(rat)를 사용하여 *in vitro*에서의 경피투과 실험을 진행하여 항고지혈중제제의 오심, 구토 및 간기능 저하 등의 부작용 감소와 천연다당류의 연고기재로서의 가능성 및 투과촉진제의 영향 등을 검토하였다.

2. 실험

2.1. 실험 재료 및 분석 기기

경피투과실험의 연고기재로 사용된 천연다당류로서 chitosan과 algin은 Sigma사의 시약을 사용하였으며 항고지혈중제제로서 clofibrate는 Aldrich사제 특급시약을 사용하였으며 투과촉진제(enhancer)로 사용된 glycerin, PEG (polyethylene glycol, n : 600), oleic acid는 Aldrich사제 특급시약을 사용하였다. 경피투과제제를 제조하는데 사용한 용매로서는 Millipore사의 Milli-Q reagent system을 사용하여 처리한 초순수를 자외선으로 24시간 멸균 처리하여 사용하였다. *In vitro* 실험에서의 대체 혈장용액은 Sigma사의 phosphate buffered

saline(이하 PBS)을 이용하여 pH 7.4로 제조하였으며 기타 실험에 사용한 에탄올, 초산 등의 용매는 국산용매를 재증류하여 사용하였다. 실험동물은 (주)대한실험동물센터에서 4주령 된 SPF 양성 SD계 랫드를 분양 받아서 일주일간 적응 순화시킨 후 건강한 동물을 선택하여 *In vitro*에서의 실험을 위해 막으로 사용할 랫드의 피부를 적출하였다. 랫드는 클로로폼을 사용하여 마취하였고, 털을 제모하고 에틸알코올로 소독한 후 멸균된 수술용 칼로 표피를 가로, 세로 각각 5.0 cm의 크기로 등쪽 피부를 적출하여 피하지방과 혈관 등을 상하지 않게 제거하였으며 이때 피하지방과 혈관 등을 상하지 않게 주의하였다[9]. 적출한 피부를 실험장치 중앙에 고정시킨 후 실험을 진행하였다. 피부투과 실험을 위해 아크릴로 제작한 Figure 1의 수평막셀을 사용하여 투과실험을 진행하였다.

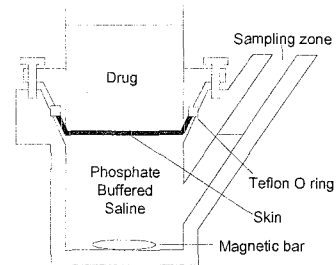


Fig. 1. Schematic Diagram of Transdermal Absorption Apparatus of Drug Release *In Vitro*.

2.2. 경피투과제제의 제조

경피투과제제의 제조방법으로 일정 양의 용매에 천연다당류, 약물인 clofibrate와 투과촉진제의 양을 일정하게 취하여 각각 용해시켰다. 수용액상에서 점성을 나타내므로 기계식 교반기를 사용하여 일정시간 동안 균일하게 분산 용해되도록 하였다. 이때 기포가 발생하면 일시적으로 초음파반응을 실시하여 기포생성을 방지하였다. 이와 같이 제조한 경피투과제제는 밀봉하여 사용할 때까지 PE병에 보관하였으며 제조한 경피투과제제들의 조건을 Table 1에 나타내었다.

2.3. *In vitro*에서의 경피투과

각각 동일 조건으로 제조된 경피투과제제를

*In vitro*에서의 50 ml의 부피를 가지며 적출한 랫드의 피부가 고정된 투과셀 상층에 제조한 연고기체를 동량 적가하고 110 rpm을 유지하여 37±0.5°C로 유지된 항온조에서 실험하였으며 교반기를 사용하여 막주위의 농도분극이나 boundary resistance를 제거하였다[11]. 투과가 진행되는 동안 투과정도는 분광광도법으로 측정하였으며 sink condition을 유지하기 위하여 곧바로 시료 3.0 ml를 채취한 후 바로 동량의 PBS를 넣어주었다. 채취된 시료는 millipore filter(pore size : 0.2 μm)로 그대로 여과한 후 clofibrate의 최대흡수파장인 280 nm에서 측정하였으며 각 실험은 3회 실시하여 그 평균치를 사용하였다.

2.4. 경피투과 이론

피부를 통한 약물의 흡수는 약물이 기재와 생체내부 사이의 농도차에 의한 현상이다. 각질층을 투과하는 전체 확산과정은 기재 중에서 확산, 각질층으로 분배와 확산, 각질층 이하의 층으로 분배, 표피와 진피 중에서의 확산 그리고 진피 중에서 혈액으로의 이행으로 나눌 수 있다. 확산현상은 약물의 농도 구배와 이동속도

- D : 확산계수, cm^2/hr ,
- J : 투과속도, cm/hr ,
- t : 시간, hr ,
- x : 투과거리 (막의 두께) h , cm

약물의 피부투과는 대부분 정상상태에서의 투과속도로 정해진다. 피부가 barrier막이고, 식(1)에서 $(\partial C/\partial X)$ 가 X에 관계없이 일정하고 피부표면의 약물농도가 0이라고 가정하면, 피부라는 막에서의 약물의 농도는 실제 측정이 불가능하므로 공여체와 수용체의 농도와 분배계수의 곱으로부터 구한다. 약물을 현탁액 형태로 적용하여 약물이 분배계수 K에 따라 피부에 분배되고 수용체에서 항상 sink condition이 유지되고 있다고 하면 수용체 층으로의 누적 약물 투과량 Q는 다음의 (2)식으로 나타내진다.

이 식으로부터 비선형 최소자승법을 이용하여 누적약물 투과량-시간곡선을 해석하여 K와 D를 구할 수 있다[13]. 정상상태의 기울기가 투과속도 J이며 이직선을 시간축에 외삽했을때의 교점이 lag-time LT에 해당하므로 J와 LT는 그래프로부터 구할 수도 있다. 식(2)에서 $t \rightarrow \infty$ (정상상태)가 되면

$$Q = AKLC_v \left[\frac{D}{L^2}t - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \exp\left(-\frac{Dn^2\pi^2 t}{L^2}\right) \right] \tag{2}$$

의 관계를 나타내는 Fick의 제1식[(1)]으로 표현된다[12].

$$\frac{J}{A} = -D \frac{\partial C}{\partial X} \tag{1}$$

- A : 투과면적, cm^2 ,
- C : 약물의 농도, g/ml ,

$$Q = AKLC_v \left[\frac{D}{L^2}t - \frac{1}{6} \right] \tag{3}$$

식(3)으로부터 정상상태의 투과속도 J, lag-time LT, 투과계수 K_p 는

$$J = AKC_v D/L = A(K_p) C_v \tag{4}$$

Table 1. Composition of Transdermal Forming(unit : mg)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Chitosan	255	-	225	-	225	225	225	225	225
Algin	-	255	-	225					
Clofibrate	45	45	75	75	75	75	75	75	75
Glycerin	-	-	-	-	40	-	80	-	-
PEG 600	-	-	-	-	-	40	-	80	-
Oleic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	80
Water	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

$$LT = \frac{L^2}{6} D \quad (5)$$

$$K_p = K \frac{D}{L} \quad (6)$$

따라서 피부 barrier의 두께 L 을 안다면 lag-time으로부터 D 를 구하고 D 와 K_p 로부터 K 를 구할 수 있다[14,15]. 이러한 투과속도 계산법을 이용하여 기재와 약물의 조건변화에 따른 랫드의 피부에서의 경피투과 속도를 연구하였다.

3. 결과 및 고찰

천연고분자인 키토산, 알긴을 기재로 사용하여 항고지단백혈증제인 clofibrate를 첨가하고 이들을 랫드 피부에서의 약물의 함량, 투과촉진제 등의 변화에 따른 투과정도를 관찰하였다. 즉, 지용성 약물인 clofibrate의 함량을 15 wt%, 25 wt%로 경피투과제제를 제조하여 실험을 하였으며, 투과촉진제로 글리세린, PEG, 올레산을 첨가하여 경피투과제제를 제조하여 투과촉진제의 영향을 실험하였다.

먼저, Figure 2는 clofibrate의 함량에 따른 투과속도의 변화인데 *in vitro*에서 진행한 투과 실험에서의 전체적인 투과 양상은 4시간 전후에서 정상상태(lag time)에 이르고 있으며 약물의 함량이 15 wt%였을 때 키토산은 $1.219 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 이며 알긴은 $1.034 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 으로 계산되었다. 약물의 함량을 25 wt%로 하였을 때는 키토산은 $1.224 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 이며 알긴은 $1.209 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 으로 계산되었다. Lag time에 차이를 나타내는 이유로 약물함량과 기재의 차이에 따른 피부접촉면 즉 각질에서의 수화속도 차이로 생각된다. 결과에서 약물의 함량이 많은 경우가 상대적으로 빠른 투과속도를 나타냈다. 이는 일정 시간의 lag time에 도달 후 지용성 물질을 잘 투과시키는 생체 피부가 지용성 약물인 clofibrate를 빠르게 투과시키기 때문이라 생각된다.

Figure 3의 (a)와 (b)는 약물인 clofibrate의 투과속도가 상대적으로 빠른 키토산에 약물의 함량을 25 wt%로 고정하고 투과촉진제의 종류와 첨가량의 변화에 따른 결과를 나타내었다. 기재 중 글리세린 40 mg(E)는 $1.959 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, 글리세린 80 mg(G)는 $1.895 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, PEG 40

mg(F)는 $2.354 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, PEG 80 mg(H)는 $2.284 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 그리고 올레산 80 mg(I)는 $1.529 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 로 계산되었다.

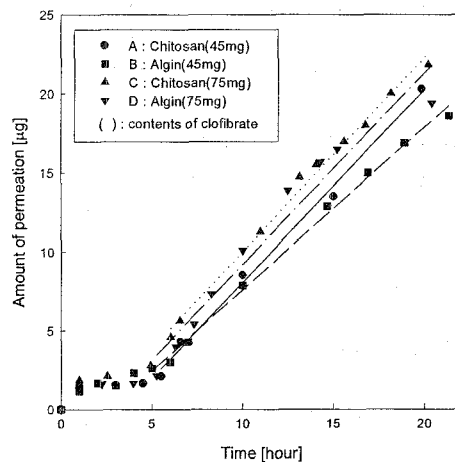


Fig. 2. Amount of Drug Release versus Time with Chitosan and Algin Ointment.

결과에서와 같이 투과촉진제를 첨가했을 때 투과속도가 빠르게 나타났으며 특히 PEG를 사용했을 경우가 가장 빠른 투과속도를 나타냈고 글리세린, 올레산의 순으로 투과속도의 증가를 나타냈다. 일반적으로 PEG는 지용성 약물의 용해보조제로서 그리고 세포간 지질 혹은 keratinocyte의 구조에 영향을 미쳐 피하내 solution capacity를 증가시키는 기전에 의하여 피부투과를 촉진시켜주는 약물에 따라서 PEG의 함량이 증가할수록 투과가 증가되다가 어느 정도 이상의 함량에서는 감소되는 경향을 나타낸다고 알려져 있는데[16], 본 연구에서도 역시 PEG의 함량이 많아질수록 투과속도가 저하되는 경향을 나타내고 있다. 이와 같이 투과촉진제는 약물의 열역학적 활동도와 용해도 파라미터 등과 관련이 있다고 생각된다. 열역학적 활동도는 물질의 도피 경향을 나타내는 개념으로 기재 중 약물과 투과촉진제의 열역학적 활동도에서 유래하는 활동도의 구배가 경피 투과를 촉진한다고 알려져 있다[17]. 즉, 투과촉진제의 효과는 기재의 성질이 크게 영향을 미친다. 예를 들면 기재와 촉진제간의 공용매 효과에 의해 기재 중 약물의 용해도가 변하면 겉보기에

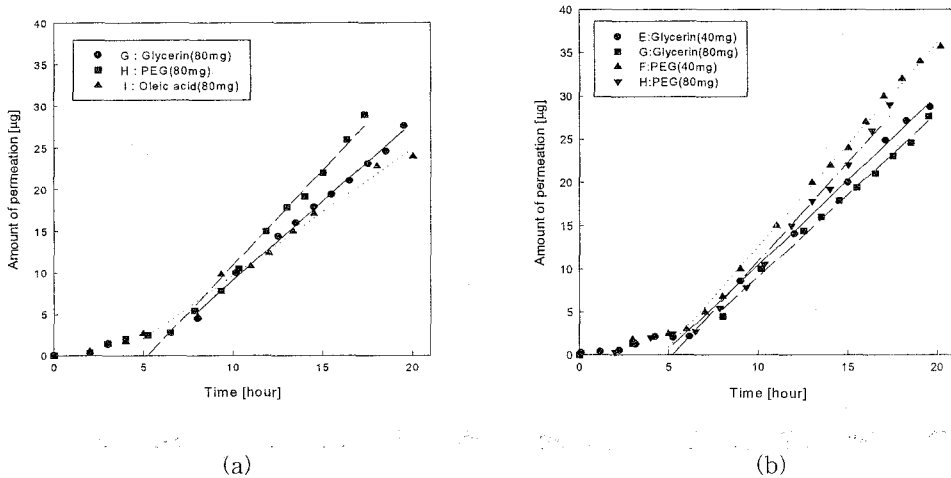


Fig. 3. Amount of 25 wt% Clofibrate Release Versus Time with Chitosan using Various Enhancers(a) and (b).

Table 2. Permeation Parameters of Clofibrate through Rat Skin from Transdermal

Formulation		Permeation parameters		
		$J_s(\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr})^a$	$T_L(\text{hr})^b$	$D(\text{cm}^2/\text{hr} \times 10^4)^c$
Clofibrate 75mg	Chitosan A(Clofibrate 45mg)	1.219	3.38	5.79
	Algin B(Clofibrate 45mg)	1.224	1.83	11.02
	Chitosan C(Clofibrate 75mg)	1.034	2.69	7.49
	Algin D(Clofibrate 75mg)	1.209	2.38	8.47
	Chitosan E(Glycerin 40mg)	1.959	4.66	4.33
	Chitosan F(PEG 600 40mg)	1.895	5.19	3.89
	Chitosan G(Glycerin 80mg)	2.354	4.63	4.36
	Chitosan H(PEG 600 80mg)	2.284	5.23	3.86
	Chitosan I(Oleic acid 80mg)	1.529	3.68	5.48

^{a)} J_s : steady-state flux, ^{b)} T_L : lag time, ^{c)} D : diffusivity coefficient

같은 농도라도 약물의 열역학적 활동도가 변하기 때문에 피부 투과량이 변할 수 있으며 기재의 차이로 투과촉진제 자체의 피부 투과성에 영향을 받을 수 있으리라 생각된다. 확산 현상의 결정 인자중 하나인 분배 계수나 활동도 계수를 포괄적으로 이해하는데 유용한 개념이 용해도 파라미터이다. 이중 약물과 투과촉진제의 지용성을 분배계수로 표현하며 일반적으로 약물과 투과촉진제의 친유성이 증가하게 되면 분배 계수도 증가하여 피부 투과속도도 증가한다.

이러한 용해도 파라미터는 유사한 분자간의 응집력을 나타내며 일반적으로 약물의 친유성이 증가하면 용해도 파라미터는 작아진다. 즉, 포화 용해도 이하의 농도 범위에서는 약물과 기재 또는 기재와 투과촉진제간의 용해도 파라미터 차이가 클수록 투과계수가 증가한다. 이는 Uchida[18]의 실험에서도 증명되었듯이 용액중의 용질인 약물의 활동도 구배가 경피 흡수를 촉진한다고 알려져 있으며 약물의 피부 중에서의 mobility에도 투과촉진제의 종류에 따라 차

이가 나는 것으로 생각된다. 또한 대부분의 약물은 지용성인데 피부막을 약물이 용이하게 투과하기 위해서는 단백질과 지방으로 구성된 피부를 swelling하거나 각 분자가 차지하는 공간을 증가시켜야 한다. 상용 연고 기재 중 일부 사용되고 있는 PEG은 글리세린 보다 지용성 약물인 clofibrate에 대해 피부내의 지방과 단백질의 유동성과 피부 각질의 lipophilicity를 증가시킴으로서 각질로의 약물 분배를 촉진한다고 생각된다. 이와 같이 투과촉진제를 사용함으로써 약물의 투과도를 증가시킬 수 있었다. 그러나 수용성 또는 이온성 약물의 경피투과를 촉진하는 DMSO 및 decylmethylsulfoxide (DCMS) 같은 일부 투과촉진제는 피부에 매우 자극적[19]인 경우가 있으므로 투과촉진제의 선택시와 과다 사용은 피부에 대해 자극이나 손상을 발생하기도 하며 피부 자체의 안전성에 나쁜 영향을 줄 수 있으므로 투과촉진제의 종류와 양을 적절하게 조절해야만 한다.

4. 결론

약물 방출조절 기재로서 천연다당류를 사용하고 항고지단백혈중제제인 clofibrate와 혼합하여 기재의 종류, 약물의 함량 및 투과촉진제의 종류에 따라서 경피투과제제를 제조하고 *in vitro*에서의 경피투과 실험을 실시한 결과 다음의 결론을 얻었다.

키토산 기재일 경우가 빠른 투과속도를 나타내었으며 clofibrate의 함량이 많을수록 연고기재의 종류에 상관없이 상대적으로 빠른 투과속도를 나타내었다. 이는 일정 시간의 lag time에 도달 후 지용성인 생체 피부가 지용성 약물인 clofibrate를 투과시키기 때문이라 생각된다.

투과촉진제를 첨가했을 때에 순수 약물만의 투과속도보다 빠른 투과속도를 나타내었으며 특히 PEG을 사용했을 경우가 가장 빠른 투과속도를 나타냈고 글리세린, 올레산의 순으로 투과속도의 증가를 나타냈다. 상용 연고 기재 중 일부 사용되고 있는 PEG은 글리세린 보다 지용성 약물인 clofibrate에 대해 피부내의 지방과 단백질의 유동성과 피부 각질의 lipophilicity를 증가시킴으로서 각질로의 약물 분배를 촉진한다고 생각된다. 비록 *in vitro*이기는 하나 본 실험을 통하여 항고지단백혈중제의 경피투과가

능성을 확인 할 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 인천대학교 2006년도 자체연구비 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. D. Bohl, A. Salvetti, P. Moullier, and J. M. Heard, Control of Erythropoietin Delivery by Doxycycline in Mice after Intramuscular Injection of Adeno-Associated Vector, *Blood*, **92**(5), 1512 (1998).
2. A. M. Lowman, M. Morishita, M. Kajita, T. Nagai, and N. A. Peppas, Oral Delivery of Insulin Using pH-Responsive Complexation Gels, *J. Pharmaceu. Sci.*, **88**(9), 933 (2003).
3. N. Bastien, M. Trudel, and C. Simard, Complete Protection of Mice from Respiratory Syncytial Virus Infection Following Mucosal Delivery of Synthetic Peptide Vaccines, *Vaccine*, **17**(7~8), 832 (1999).
4. S. Henry, D. V. McAllister, M. G. Allen, and M. R. Prausnitz, Microfabricated Microneedles : A Novel Approach to Transdermal Drug Delivery, *J. Pharm. Sci.*, **88**(9), 948 (2005).
5. D. V. Lejnieks, N. Ramesh, S. Lau, and W. R. A. Osborne, Stomach Implant for Long-term Erythropoietin Expression in Rats, *Blood*, **92**(3), 888 (1998).
6. R. S. Langer and D. L. Wise, "Medical Applications of Controlled Release", **2**, 2~12, CRC Press, Florida(2004).
7. P. Johnson and J. G. Lloyd-Jones, "Drug Delivery Systems", 7~28, Ellis Horwood Ltd., England(2001).
8. W. Tune, "Drug Delivery Devices : Fundamentals and Applications Praveen",

- Tyle, Ed., Dekker, New York, **Vol. 32**, 213~234(2002).
9. Rohde, Buchwald, blackshear, "Drug Delivery Devices : Fundamentals and Applications, Praveen", Tyle, Ed., Dekker, New York, **Vol. 32**, 236 (1999).
 10. T. Yano, A. Nakagawa, and K. Noda, Skin Permeability of Various Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug in Man, *Life Sci.*, **39**, 1043 (1996).
 11. U. D. Rohr and T. Kissl, Pharmacokinetics of the Transdermal Reservoir Membrane System Delivering β -Estradiol, *Pharm. Res.*, **15(6)**, 877 (1998).
 12. U. D. Rohr and R. Altenburger, Rat Control in Transdermal β -Estradiol the role of Membrane and Adhesive of layer, *Pharm. Res.*, **15(8)**, 1238 (2001).
 13. E. Cicinelli, L. T. Ignarro, L. Maria, and G. Baizano, Effects of Short-term Transdermal Estradiol Administration on Plasma Levels of Nitric Oxide in Postmenopausal Woman, *Fertility and Sterility*, **69(1)**, 58 (1999).
 14. S. Yagi, K. Nakayama, K. Higaki, and T. Kimura, Factors Determining Drug Residence in Skin During Transdermal Absorption, *Biol. Pharm. Bull.*, **21(11)**, 1195 (2003).
 15. R. J. Scheuplein and L. E. Morgan, 'Bound water' in Keratin Membranes Measured by a Microbalance Technique, *Nature*, **214**, 456 (2000).
 16. B. W. Barry, "Dermatological Formulations", 1~48, Marcel Dekker, New York(1998).
 17. M. Kalz and B. J. Poulsen, "In Handbook of Experimental Pharmacology", **Vol. 28**, 103~174, Academic Press, New York(1998).
 18. B. W. Barry, "Dermatological Formulations", 95~126, Marcel Dekker, New York(2003).
 19. U. Tauber, "In Dermal and Transdermal Absorption", 133~151, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart(2002).