

## 이온토포레시스를 이용한 levodopa의 경피전달: electroosmosis 및 electrorepulsion의 역할

정신애 · 곽혜선<sup>1</sup> · 전인규<sup>2</sup> · 오승열<sup>†</sup>

숙명여자대학교 약학대학, <sup>1</sup>이화여자대학교 약학대학, <sup>2</sup>동덕여자대학교 약학대학  
(2008년 1월 13일 접수 · 2008년 2월 12일 승인)

### Levodopa Transport through Skin using Iontophoresis: the Role of Electroosmosis and Electrorepulsion

Shin-ae Jung, Hye-sun Gwak<sup>1</sup>, In-koo Chun<sup>2</sup>, and Seaung-youl Oh<sup>†</sup>

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Ewha Woman's University, Seoul 120-750, Korea

<sup>2</sup>College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

(Received January 13, 2008 · Accepted February 12, 2008)

**ABSTRACT** – The objective of this work is to study transdermal delivery of levodopa using iontophoresis and evaluate various factors which affect the transdermal transport. Levodopa is unstable in aqueous solution, and, in order to establish a stable condition for levodopa for the duration of experiment, we investigated the stability of levodopa in aqueous solutions of different pHs with/without the addition of dextrose or the application of current. Using stable aqueous solution, we have studied the effect of pH, polarity and penetration enhancer (ethanol) on transdermal flux and compared the results. We also investigated the iontophoretic flux from hydroxypropyl cellulose (HPC) hydrogel. In vitro flux study was performed at 33°C, using side-by-side diffusion cell. Full thickness hairless mouse skin and rat skin were used for this work. Current densities applied were 0.4 or 0.6 mA/cm<sup>2</sup> and current was off after 6 hour application. Stability study showed that levodopa solution with a pH 2.5 or 4.5 maintained the initial concentration of levodopa for 24 hours with the addition of 5% dextrose. However, at pH 9.5, levodopa was unstable and 30 to 40% of levodopa degraded within 24 hours, even with the addition of 5% dextrose. Hydrogel swollen with dextrose added levodopa solution maintained about 97% of the initial concentration of levodopa for 13 days, when stored in 4°C. The application of current did not affect the stability of levodopa in hydrogel. Flux study from levodopa solution with pH 2.5 showed that cathodal delivery of levodopa was higher than passive or anodal delivery. When the pH of the donor solution was 4.5, anodal delivery of levodopa was higher than passive or cathodal delivery. These results seem to indicate that electroosmosis plays more dominant role than electrorepulsion in the flux of levodopa at pH 2.5, and the reverse situation applies for pH 4.5. The passive flux was unexpectedly high for the ionized levodopa. Similar to the results from aqueous solution, cumulative amount of levodopa transported from HPC hydrogel by cathodal delivery was significantly higher than passive or anodal delivery. The treatment of 70% ethanol cotton ball by scrubbing increased passive, anodal and cathodal flux, with the largest increase for anodal flux, These results indicate that iontophoretic delivery of zwitterion such as levodopa is much complicated than that can be expected from small ionic molecules with single charge. The results also indicate that the balance between electroosmosis and electrorepulsion plays a very important role in the transport through skin.

**Key words** – Iontophoresis, Levodopa, Hydrogel, Electroosmosis, Electrorepulsion

Levodopa (L-3,4-dihydroxyphenylalanine) (Fig. 1)는 dopamine의 결핍으로 초래되는 Parkinson's disease (PD)를 호전시키기 위해 사용되는 약물이다.<sup>1,2)</sup> 지난 30 여 년 동안 levodopa는 PD의 증상 완화를 위해 사용되어져 왔으며 아직도 가장 효과적인 약물로 알려져 있다. Dopamine 자체는

blood-brain-barrier (BBB)를 통과하지 못하지만 levodopa는 dopamine의 전구물질로 BBB를 통과할 수 있으며, 통과 후 뇌에서 decarboxylation되어 dopamine으로 전환된다. Levodopa는 경구투여 1~3시간 후에 혈장 내에서 최고농도에 도달하고 약물의 2/3는 뇨로 배설되며 대사에는 8시간 정도 소요된다. 경구투여 된 levodopa는 대부분 말초에서의 대사에 의해 dopamine으로 전환되며 약 1~3% 정도만 뇌에 도달한다. 말초에서의 대사 감소를 통한 뇌 내의 levodopa 이용율을 증가시키고 말초에서 생성되는 dopamine의 양을 줄

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 02)710-9563, E-mail : syoh@sookmyung.ac.kr

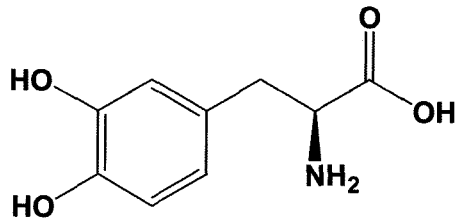


Figure 1—Chemical structure of levodopa (M.W. 197.2).

여 dopamine에 의한 전신적인 부작용 발현을 감소시키고 뇌로의 이행을 높이기 위해 일반적으로 decarboxylase 억제제인 carbidopa와 함께 투여한다.<sup>3-5)</sup>

Levodopa는 경구투여 시 대부분 소장에서 흡수되는데 그 흡수속도는 음식물, 위배출속도와 pH 등에 의존적이며 오심, 구토, 식욕부진 등의 위장관계 부작용이 환자의 80%에서 나타난다. 생체이용율은 약 30%이며 간초회통과효과가 커서 다양하고 특이한 임상반응이 일어나며 흡수와 대사에 대한 개입이 커서 용량조절에 어려움이 있다.<sup>4,6)</sup> 또한 Parkinson's disease 환자의 대부분이 고령이고 우울증, 언어장애, 치매 등이 이차적 증상으로 나타나고 있어 경구투여 시 복약 순응도가 낮은 편이다.<sup>2,4)</sup> Levodopa를 경피로 전달할 경우 상기된 경구투여의 여러 문제점을 피할 수 있고 반감기가 짧은 (0.75-1.5시간) levodopa의 지속적인 전달이 가능하며 적용전류세기 및 적용시간 조절로 개인적인 용량조절이 가능하고 패취를 붙이고 있기 때문에 환자의 복약 여부를 직접적으로 확인할 수 있어 치료효과의 증진이 예상된다.<sup>6-8)</sup> 또한 levodopa 경피전달은 짧은 반감기나 장기간 경구투여에 의한 불규칙적인 흡수 때문에 발생할 수 있는 motor complication을 방지할 수 있는 장점도 가지고 있다.<sup>9)</sup>

본 연구에서는 이온토포레시스를 이용하여 levodopa의 경피전달을 시도하였으며 투과에 영향을 미치는 여러 인자에 대해 조사하였다. 이온토포레시스는 매우 약한 전류를 적용하여 피부를 통해 약물을 투여하는 방법으로서 기존의 농도구배에 따른 단순확산에 의한 경피투여제에 비해 수배에서 수십 배의 약물전달효과를 나타낼 수 있다.<sup>10)</sup> 특히 수분을 다량 함유한 하이드로겔을 사용할 경우 높은 함수율로 전도성이 증가하여 이온토포레시스의 효과가 크게 증대될 뿐만 아니라 임상 적용 시 용액에 비해 더 용이하게 사용될 수 있다.<sup>11)</sup> 하이드로겔은 수분을 다량 함유하고 있어서 생체적합성이 뛰어난 뿐 아니라 산소, 영양소, 대사산물에 대한 투과력이 높고 biological fluid나 물에 대한 계면장력이 낮으며 팽윤된 후의 부드러움 탄력성 있는 점도 등으로 인하여 biomaterial, controlled-release devices, chromatographic packings, electrophoresis gels 등으로 널리 이용되고 있다.<sup>12-14)</sup> Levodopa는 분자량이 197 g/mole로 비교적 작고,

zwitterion으로 낮은 pH에서 양하전, 높은 pH에서 음하전을 나타내므로 이온토포레시스에 유리할 것으로 생각된다. 본 연구에서는 먼저 다양한 조건에서 levodopa의 안정성을 연구하였고 용액의 pH, 전류의 극성 및 투과증진제의 피부투과에 영향을 미치는 인자들에 대해 연구 비교하였으며, levodopa를 포함하는 하이드로겔을 제조하여 피부 투과량을 조사하였다.

## 실험방법

### 시약 및 기기

Levodopa는 (주)한국유나이티드 제약 (Seoul, Korea)에서 제공받았다. 완충액의 제조에 사용된 sodium phosphate monobasic 및 dextrose는 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, sodium chloride는 덕산이화학 (Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 증류수는 Barnstead사 (Dubuque, Iowa, USA)의 Nanopure ultrapure water system (D11921)을 사용하여 제조하였으며, HPLC에서 mobile phase를 만드는데 사용한 acetonitrile (HPLC grade)는 덕산이화학 (Seoul, Korea)에서, ammonium formate는 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 하이드로겔을 만드는데 사용한 HPC (hydroxypropyl cellulose)는 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. In vitro flux 실험에는 유일과학 (Pusan, Korea)에서 제조한 side by side 확산셀, Variamag사 (Mnchen, Germany)의 multistirrer (Electronicruhrer Poly 15), 항온조절이 가능한 Jeio Tech. (Ansan, Korea)의 incubator (SI-900)를 사용하였다. DC power supply로는 Power Tech (Ansan, Korea)의 model number PT 70-10MDC를 사용하였다.

### 전극의 제조

Electrode로는 막대기형 Ag/AgCl 전극과 판상의 Sn/SnCl<sub>2</sub> 전극을 제작하여 사용하였으며 막대기형 전극은 Aldrich사 (Milwaukee, WI, U.S.A.)의 Ag wire (99.9%, 직경 1 mm) 한쪽 끝 부분을 AgCl (Aldrich사) 용액에 수회 침적시켜 제조하였다. 판상의 Sn/SnCl<sub>2</sub>전극은 polyester film 위에 30 μm 두께로 Sn 입자 (덕산이화학, Seoul, Korea)를 입힌 다음 이를 산화시켜 제조하였다.

### 약물을 포함하는 하이드로겔의 제조

Levodopa를 함유하는 HPC 하이드로겔은 인산완충액에 levodopa를 5 mg/mL의 농도로 용해시킨 후 그 용액에 HPC (8%, w/w)를 넣어 교반한 뒤 냉장고에서 24시간 보관

한 후 사용하였다.

### 정량

Levodopa의 정량은 high-performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하였다. HPLC system으로 Shimadzu 사 (Tokyo, Japan)의 CBM-10A system과 SIL-10A auto injector가 사용되었고, 칼럼으로는 Waters사 (Milford, MA, USA)의 Atlantis 5  $\mu\text{m}$  ODS2 (4.6 $\times$ 150 mm)을 사용하였으며 oven의 온도는 33°C를 유지하였다. 증류수:acetonitrile: 100 mM ammonium formate=88:2:10 비율의 이동상 (pH 3.0)을 사용하였고, flow rate는 1.0 mL/min을 유지하였으며 injection volume은 30  $\mu\text{L}$ 였다. Detector로는 UV를 사용하였으며 280 nm에서의 흡광도를 측정하여 정량하였다.

### 실험조건에서 약물의 안정성

실험시간 (24 시간) 동안 약물이 donor 용액 (인산완충액)에서 어느 정도 분해가 일어나는지를 알기 위해 안정화제로 5% dextrose를 첨가하여 33°C incubator에서 약물 안정성을 조사하였다. Dextrose를 5%, NaCl을 154 mM 포함하는 70 mM 인산완충액 (pH 2.5/4.5/9.5)와 dextrose는 포함하지 않고 NaCl만 154 mM 녹아 있는 70 mM 인산완충액 (pH 2.5/4.5/9.5)에 각각 levodopa를 1 mg/mL의 농도로 완전히 용해시켜 실온에 보관한 후 미리 정해놓은 시간 후에 검액을 취하여 남아있는 약물의 농도를 정량하였다. 적용전류가 약물의 안정성에 미치는 영향 연구를 위해서 vial에 하이드로겔을 채우고 33°C incubator 내에 위치한 다음 막대 형태의 전극을 넣고 0.6 mA의 전류를 적용시키면서 50시간 동안 약물의 농도변화를 조사하였다. 또한 약물을 함유한 하이드로겔을 만든 후 장시간 보관할 때 하이드로겔 내에서 약물의 안정성을 알아보기 위해 levodopa를 포함하는 8% HPC 하이드로겔을 제조하여 18일 간 냉장 보관하면서 정해진 시간이 경과한 후에 일정량의 검액을 취하여 남아있는 levodopa의 함량을 정량하였다.

### In vitro 피부투과

용액으로부터의 약물투과 - 8 주령의 무모생쥐의 full-thickness 피부와 내용량 1 mL, 투과면적 0.79  $\text{cm}^2$ 의 side-by-side 확산셀을 사용하여 33°C incubator에서 실시하였다. Side-by-side 확산셀 사이에 무모생쥐 피부를 놓고 clamp로 고정시킨 후 donor cell에는 약물용액을 receptor cell에는 70 mM 인산완충액 용액 (pH 2.5/4.5)을 채운 다음 Ag/AgCl 전극과 spin bar를 각 cell에 넣어 투과실험을 실시하였다. 1 시간 마다 receptor cell의 용액을 각각 모두 취해 검액으로

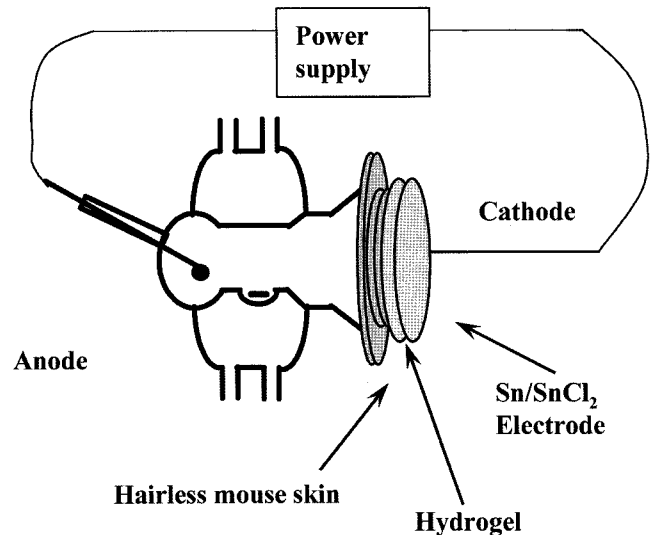


Figure 2-Schematic diagram showing iontophoretic delivery of levodopa from hydrogel.

사용하였고 즉시 새로운 인산완충액 용액을 receptor cell에 채워 넣었다. Donor cell에 양극을 연결한 경우 (anodal delivery), 음극을 연결한 경우 (cathodal delivery) 및 단순한 농도구배에 의한 flux (passive delivery)의 투과량을 조사하였다.

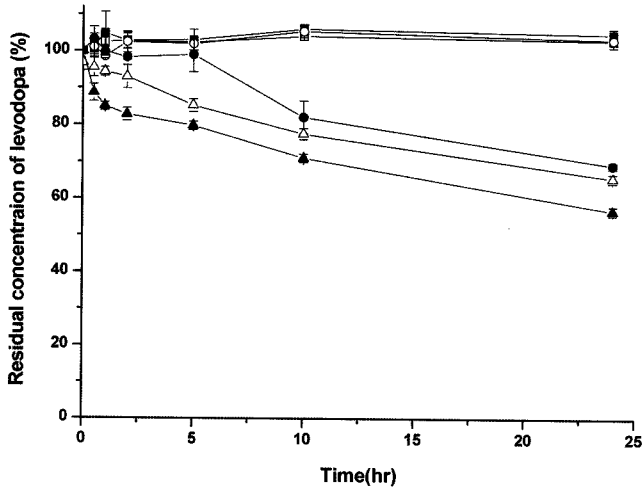
하이드로겔로부터의 약물투과 - 무모생쥐 피부에 levodopa를 함유하는 8% HPC 하이드로겔 일정량 (20  $\mu\text{L}$ )을 점적하고 판상전극 ( $\text{Sn}/\text{SnCl}_2$ )를 얹은 후 0.4  $\text{mA}/\text{cm}^2$ 의 전류를 적용하여 투과실험을 실시하였다(Fig. 2). Receptor cell에는 인산완충액용액 (pH 2.5)을 채웠으며 1시간 마다 receptor cell의 용액 전체를 취하여 HPLC를 이용하여 정량하였고 receptor cell에는 새 인산완충액용액 (pH 2.5/4.5)을 채워 넣었다. Rat 피부를 이용한 실험에서는 levodopa를 함유하는 8% HPC 하이드로겔을 일정량 (60  $\mu\text{L}$ )을 점적하고 상기된 방법으로 실험하였다.

Ethanol의 투과에 미치는 영향 - 피부투과증진제로 사용되는 ethanol에 의한 투과증진 효과를 알아보기 위하여 70% ethanol을 솜에 적시고 rat의 피부를 3회 문지른 후 상기된 방법에 따라 투과실험을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 약물의 안정성에 대한 연구

Kankkunen 등의 연구에 의하면 levodopa는 물의 존재 하에 염기성 pH에서 신속히 산화되고 산성 pH에서는 안정성이 크게 증대되며 또한 levodopa를 산성 조건에서 이온교환수지에 결합시키면 안정성이 크게 증가함을 보고하였다.<sup>15)</sup>



**Figure 3**—Stability of levodopa in phosphate buffer solutions with different pHs at 33°C. Each data point represents the mean (±S.D.) of 3 experiments. Filled symbols indicate data from control treatment and open symbols indicate data from dextrose (5%) treated experiment. ■ & □: pH 2.5, ● & ○: pH 4.5, ▲ & △: pH 9.5.

안정성을 증가시키는 또 다른 방법으로 dextrose를 levodopa 수용액에 첨가하는 방법도 보고 되었는데 levodopa 주사액에 dextrose를 첨가할 때 levodopa 분해가 지연되어 45°C에서도 7일간 90% 이상 약물 농도를 유지하였다.<sup>16)</sup> 본 연구에서는 세 가지 pH (2.5, 4.5, 9.5)에서 levodopa의 시간에 따른 안정성 및 dextrose의 첨가 시 안정화 효과를 조사하였다. 본 연구의 결과에서도 Kankkunen 등의 연구 결과와 유사한 경향을 관찰하였는데 pH 2.5의 인산완충액에서는 24시간까지 약물의 분해가 거의 일어나지 않아 안정한 것으로 나타났으며 또한 안정제로서 dextrose를 첨가한 경우에도 비슷한 결과를 나타내었다(Fig. 3). pH 4.5와 pH 9.5에서는 인산완충액 내의 levodopa가 급격하게 분해되었으며 pH 값이

클수록 분해가 더 신속히 일어났다. pH 4.5에서 5% dextrose를 첨가한 경우 levodopa의 안정성이 24시간까지 유지되어 dextrose의 안정화 효과를 확인할 수 있었으나 pH 9.5에서는 dextrose를 첨가한 경우에도 24시간 후에 약물이 30% 이상 분해된 것으로 나타나 높은 pH 조건에서는 dextrose의 안정화 효과가 없는 것을 알 수 있었다. 이 결과를 바탕으로 본 연구에서는 실험하는 시간인 24시간 동안 약물이 안정성을 나타내는 pH 2.5 및 4.5에서만 실험을 실시하기로 하였으며 약물용액으로는 dextrose를 5% 첨가한 것을 사용하기로 하였다.

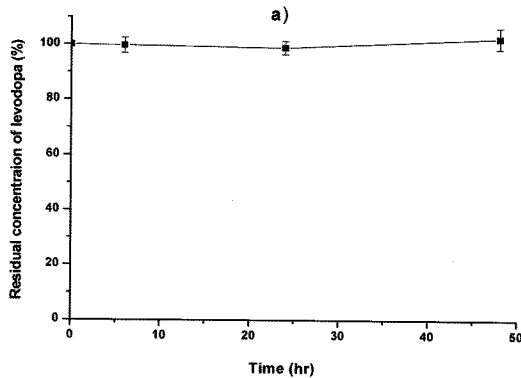
하이드로겔 내의 약물의 안정성에 미치는 전류의 영향을 조사한 결과 50시간 까지 약물의 분해는 일어나지 않는 것으로 나타났다(Fig. 4). 이 결과는 또한 24시간의 flux 실험 기간 동안 약물이 하이드로겔 내에서 분해가 거의 일어나지 않음을 알려주고 있다. 한편 약물이 함유된 하이드로겔을 장시간 4°C에서 냉장 보관할 경우 13일까지는 97%의 약물 농도가 유지 되었으나 18일 후에는 그 함량이 84%로 감소 되어 약물의 약 16%가 분해된 것으로 나타났다. 이 결과는 levodopa 용액을 용시에 제조하여 사용하는 것이 안정성 확보에 필요하며 용액으로 제조하여 냉장 상태로 보관하며 반복적으로 사용하고자 할 때에는 약 10일 이상 지나면 사용하지 말아야 함을 알려주고 있다.

**약물용액으로부터의 피부투과**

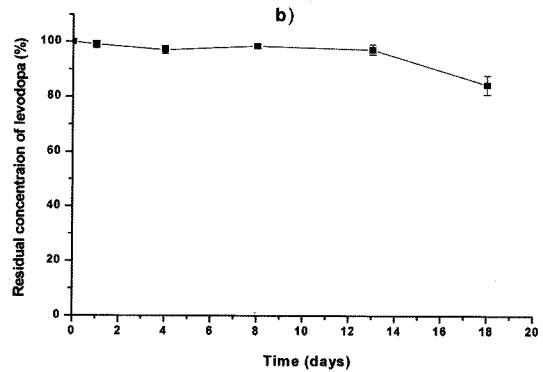
이온토포레시스의 기전은 다음과 같은 Nernst-Plank equation으로 설명된다.<sup>17,18)</sup>

$$J = -D_i \left( \frac{dC_i}{dX} + \frac{C_i Z_i F}{RT} + \frac{dV}{dX} \right) + VC_i$$

a) 냉장보관



b) 전류영향

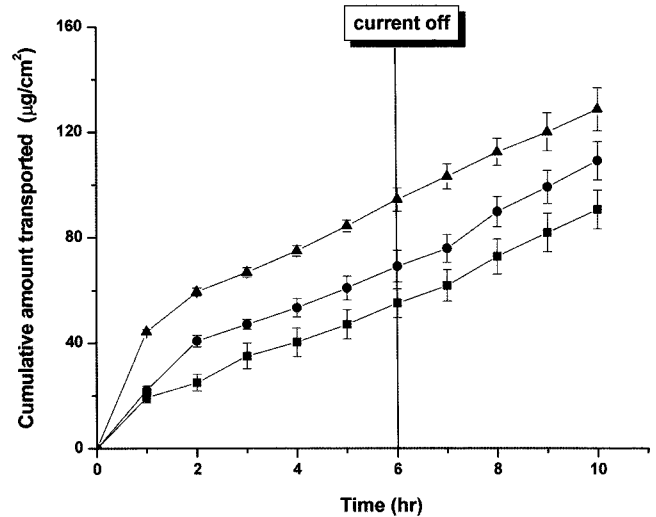


**Figure 4**—Stability of levodopa in HPC hydrogel; a) during 0.6 mA current application at 33°C, b) during storage at 4°C for 18 days. Each data point represents the mean (±S.D.) of 3 experiments.

$$J_t = J_p + J_{er} + J_{eo}$$

이 식에서  $J$ 는 확산류 (flux)로써 단위시간당 단위면적을 통과하는 약물의 양을 나타내며  $F$ 는 Faraday 상수,  $D$ 는 확산계수,  $C$ 는 이온의 농도,  $Z$ 는 이온의 전하,  $T$ 는 절대온도,  $V$ 는 막을 통해 적용된 전압 그리고  $R$ 은 Boltzmann 상수를 나타낸다. 이 식을 보면 이온토포레시스에 의한 total flux ( $J_t$ )는 약물의 농도구배에 의해 생성되는 passive diffusion에 의한 flux ( $J_p$ )와 전하를 적용시킴으로 인하여 생성되는 electrorepulsion에 의한 flux ( $J_{er}$ ) 그리고 생리학적 pH에서 피부의 전기가 흐르는 통로가 음전하를 띄고 있어 생성되는 electroosmosis에 의한 flux ( $J_{eo}$ )의 합으로 이루어짐을 알 수 있다. Electroosmosis 현상은 피부의 전기를 통하는 통로 내의 액체의 흐름으로 이는 생리학적 pH에서 통로 표면이 음전하를 가지고 있어 양이온에 대한 permselectivity가 있어 발생한다. 즉 통로 내의 음전하 표면에 전기이중층이 형성되고 이 이중층 내의 양전하가 cathode 쪽으로 끌려가면서 음전하에 비해 피부를 통해 흐르는 전체 전류의 더 많은 비율을 담당하게 되며 ( $\text{Na}^+$ 의 transport number=0.7) 전기이중층 및 주위의 물분자들이 anode에서 cathode쪽으로 이동하게 된다. Cathode 쪽으로 이동하는 물에 용해되어 있는 약물들도 같이 이동하게 되므로 단순확산이나 전기적 반발에 의한 투과 이외의 추가적인 약물의 투과 (anode에서 cathode 방향)가 이루어지게 된다.<sup>18)</sup> 이러한 electroosmosis 현상은 특히 중성 약물 및 펩타이드 약물의 피부투과에 중요한 역할을 할 수 있으며 이 현상은 여러 가지 방법에 의해 조절될 수 있다.<sup>18-20)</sup>

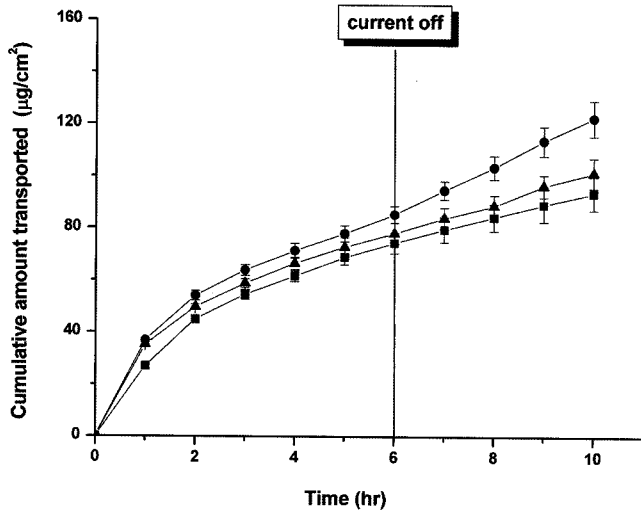
Levodopa는 zwitterion으로 pH 2.5에서는 양전하를 갖고 있어 passive delivery와 cathodal delivery는 미미하고 anodal delivery는 크게 나타날 것으로 예상되었으나 예상과는 달리 cathodal delivery가 anodal 및 passive delivery 보다 약간 우세한 것으로 나타났으며 예상 밖으로 매우 큰 passive flux가 관찰되었다(Fig. 5). 이 결과는 다음과 같은 이유로 설명되어질 수 있다고 사료된다. 피부의 전기가 흐르는 통로의 등전점은 포유동물 피부의 경우 3.5-4.8 사이로 알려져 있다.<sup>18,21,22)</sup> 등전점 이하인 pH 2.5에서는 피부의 전기가 흐르는 통로의 전하가 역전되어 음전하가 아닌 양전하를 나타내므로  $\text{Cl}^-$ 이온의 이동과 함께 형성되는 electroosmotic flow는 cathode에서 anode 쪽으로 일어나게 된다. Electroosmosis에 의해 convective flow가 일어나게 되면 용액에 용해되어 있는 약물도 자동으로 이동하게 되며 피부투과량은 증가하게 된다.<sup>18,23)</sup> 그러므로 cathodal delivery의 경우에 electroosmosis에 의해 levodopa의 투과가 증진되게 된다. 반면에 약물은 pH 2.5에서 양전하를 갖고 있으므로 cathodal



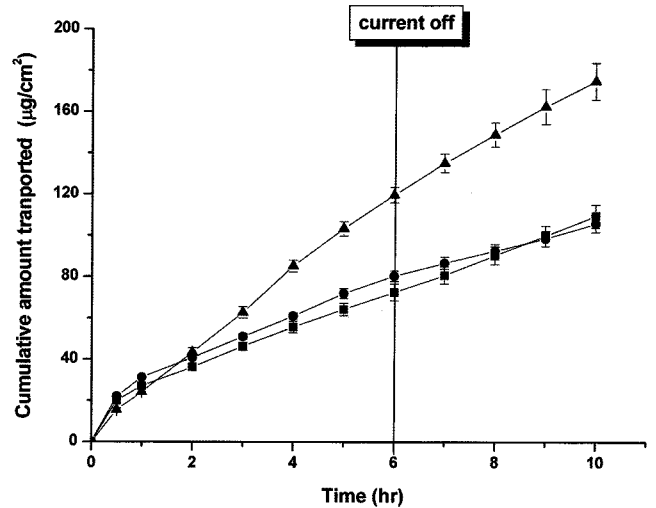
**Figure 5**—Cumulative amount of levodopa transported from phosphate buffer solution at pH 2.5 across hairless mouse skin in-vitro. Current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied four 6 hours. Each data point represents the mean ( $\pm$ S.D.) of 3 experiments. ■: passive delivery, ●: anodal delivery, ▲: cathodal delivery.

delivery의 경우 전기적으로는 전극과 약물이 서로 잡아당기기 때문에 투과량은 감소하게 된다. 한편 anodal delivery의 경우는 전기적 반발에 의한 투과 증진이 일어나지만 anode 쪽으로 흘러 들어오는 electroosmotic flow에 의해서는 오히려 투과가 방해를 받게 된다. 이와 같은 electrorepulsion과 electroosmosis간의 피부투과에 미치는 상대적 영향의 크기가 anodal 또는 cathodal delivery 중에 어느 것이 더 크게 나타날지를 결정하게 된다. 따라서 Fig. 5의 결과에서 cathodal delivery가 anodal delivery 보다 크게 나타난 것은 electrorepulsion에 의한 효과 보다 electroosmosis에 의한 효과가 더 큼을 알려주고 있다. Levodopa가 양이온을 가지고 있음에도 passive delivery가 크게 나타난 것은 예상 밖의 결과로서 보통 이온성 물질은 피부 각질층을 통과하기가 극히 어려운 것으로 알려져 있다. 이 결과에 대해서는 levodopa가 아미노산 유사 구조를 가지고 있어 어떤 transporter가 존재할 것으로 추측해 볼 수도 있으나 향후 좀 더 세밀한 연구가 필요하다고 사료된다.

pH 4.5에서의 결과를 보면 (Fig. 6) anodal delivery, cathodal delivery와 passive delivery 간의 약물 투과량에 있어 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. Levodopa는 pH 4.5에서 positive charge와 negative charge를 모두 갖기 때문에 전기적으로 중성으로 볼 수 있으며 이로 인해 electrorepulsion에 의한 효과가 서로 상쇄 되어 전류가 피부 투과에 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 판단된다. 또한 피부 자체의 isoelectric pH가 약 4.0이므로 피부의 전기가 흐르는 통



**Figure 6**—Cumulative amount of levodopa transported from phosphate buffer solution at pH 4.5 across hairless mouse skin in-vitro. Current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 6 hours. Each data point represents the mean (±S.D.) of 3 experiments. ■: passive delivery, ●: anodal delivery, ▲: cathodal delivery.



**Figure 7**—Cumulative amount of levodopa transported from 8% HPC hydrogel across hairless mouse skin in-vitro. Current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 6 hours. Each data point represents the mean (±S.D.) of 3 experiments. ■: passive delivery, ●: anodal delivery, ▲: cathodal delivery.

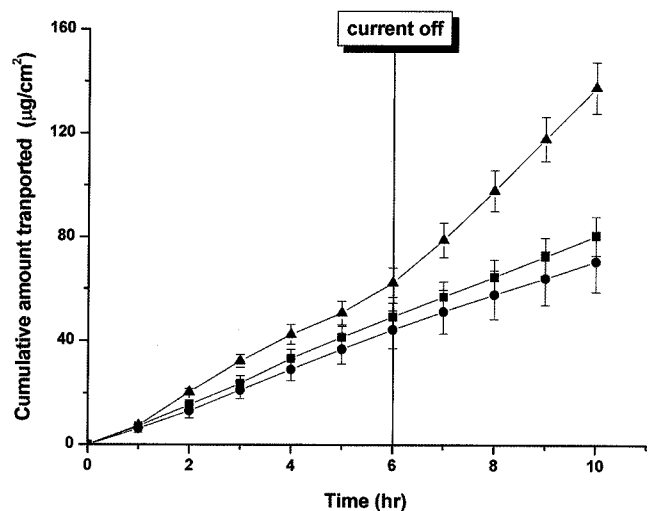
로 약간 음전하를 띄게 되어 anodal delivery의 경우 electroosmosis에 의한 투과증진효과가 일어나서 cathodal delivery 보다 큰 투과량을 나타낸 것으로 사료된다. 한편 pH 4.5에서의 anodal 및 cathodal delivery에 의한 누적투과량은 pH 2.5에서의 값보다 다소 작게 관찰 되었는데 이는 상기된 바와 같이 electrorepulsion 효과가 상실되었기 때문으로 생각된다.

**하이드로겔로부터의 피부투과연구**

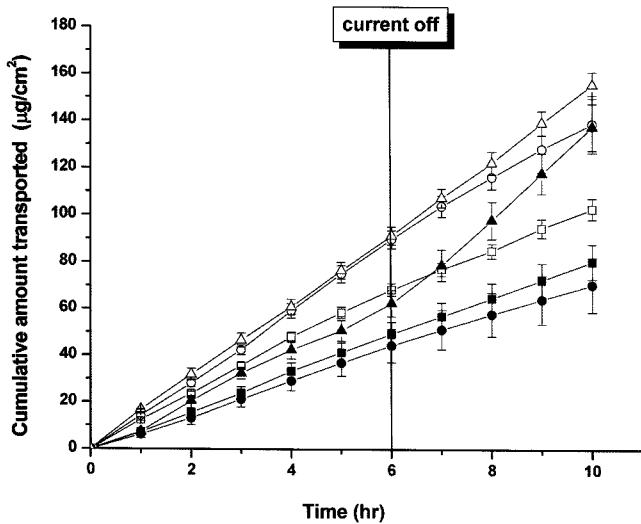
무모생쥐피부를 사용한 pH 2.5에서의 실험결과를 보면 passive나 anodal delivery는 10시간 동안의 누적투과량이 각각 109 µg/cm<sup>2</sup>, 105 µg/cm<sup>2</sup>로 비슷한 수치를 나타내지만 cathodal delivery의 경우 174 µg/cm<sup>2</sup>로 passive나 anodal delivery에 비해 약 1.6~1.7배 높은 값을 나타냈다(Fig. 7). 약물용액 자체를 donor로 사용했을 때(Fig. 5) passive, anodal 및 cathodal delivery가 각각 91, 109 및 129 µg/cm<sup>2</sup>의 누적투과량을 나타낸 것과 비교해 볼 때 하이드로겔로부터의 피부투과가 다소 크게 나타났음을 알 수 있다. 한편 용액에서의 결과와 유사하게 cathodal delivery가 anodal delivery 보다 크게 나타났는데 이는 용액 부분에서 논의된 바와 같이 electroosmosis의 효과가 electrorepulsion효과에 비해 우세하기 때문이라고 판단된다.

하이드로겔로부터 rat 피부를 통한 피부투과를 알아보기 위해 털을 제거한 rat의 등 쪽 피부를 사용하여 실험을 하였다. 5 mg/mL의 농도로 약물을 포함하는 하이드로겔 (pH

2.5)을 60 µL 피부에 점적하고 관상의 전극 (Sn/SnCl<sub>2</sub>)를 덮은 후 0.6 mA/cm<sup>2</sup>의 전류를 적용하여 투과실험을 실시하였다. 무모생쥐피부를 이용한 실험 결과와 유사하게 cathodal delivery가 passive나 anodal delivery 보다 10시간 동안의 누적투과량이 크게 나타났으며(Fig. 8) 앞서 논의된 바와 같이 electroosmosis의 효과가 electrorepulsion효과에 비해 우세함을 나타낸다고 사료된다. 무모생쥐피부를 통한 passive, anodal 및 cathodal delivery의 10시간 누적투과량이 각각



**Figure 8**—Cumulative amount of levodopa transported from 8% HPC hydrogel across rat skin in-vitro. Current of 0.4 mA/cm was applied for 6 hours. Each data point represents the mean (±S.D.) of 3 experiments. ■: passive delivery, ●: anodal delivery, ▲: cathodal delivery.



**Figure 9**—The effect of 70% ethanol treatment on transport from levodopa loaded hydrogel across rat skin in-vitro. Each data point represents the mean ( $\pm$ S.D.) of 3 experiments. Filled symbols indicate control experiment and open symbols indicate ethanol (70%) treated experiment. ■ & □: passive delivery, ● & ○: anodal delivery, ▲ & △: cathodal delivery.

109  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , 105  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , 174  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 인데 비해 rat 피부를 통한 passive, anodal 및 cathodal delivery의 10시간 누적 투과량은 각각 80  $\mu\text{g}/\text{cm}$ , 70  $\mu\text{g}/\text{cm}$ , 137  $\mu\text{g}/\text{cm}$ 로 다소 작게 나타났다. Rat 피부를 이용한 실험의 경우 donor 쪽에 무모생쥐피부를 이용한 실험 때에 비해 3배 더 많은 양의 levodopa를 적용 (20 대신 60  $\mu\text{L}$ 의 하이드로겔을 피부에 점적) 하고 전류세기도 0.4  $\text{mA}/\text{cm}^2$ 에서 0.6  $\text{mA}/\text{cm}^2$ 로 증가시켰음에도 불구하고 약 전체적으로 약 20% 정도 작은 값을 나타내었는데 이 결과는 rat 피부가 무모생쥐의 피부보다 투과에 대한 장벽 역할을 더 강하게 함을 나타낸다고 볼 수 있다. 일반적으로 사람 피부는 rat이나 pig, 무모생쥐의 피부보다 투과가 힘든 것으로 알려져 있으며 특히 무모생쥐의 피부는 투과가 잘 일어나는 것으로 알려져 있다.<sup>24-26)</sup> Scott 등의 보고에 의하면 paraquat dichloride의 피부투과를 보면 무모생쥐 피부의 경우 rat 피부에 비해 약 40배 이상 큰 투과도를 나타낸다.<sup>24)</sup>

### Ethanol의 투과에 미치는 영향

Ethanol에 의한 피부투과 증진 효과를 알아보기 위하여 70% ethanol을 솜에 묻혀 3회 문지른 후 위와 동일하게 실험하였다. Passive, anodal 및 cathodal delivery에서 모두 70% ethanol 처리에 의해 투과량이 증가 된 것을 알 수 있었다.(Fig. 9) Passive delivery 및 cathodal delivery의 경우 약 20  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 누적투과량 증가가 관찰되었으나 anodal delivery의 경우 70  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 누적투과량 증가가 관찰되어

passive 및 cathodal delivery의 경우에 비해 큰 증가를 나타냈다. 이 결과는 또한 70% ethanol 처리가 전류만을 적용한 control 실험에 비해 약 2배 정도 누적투과량을 증가시켰음을 알려주고 있다. Ethanol 솜을 이용한 물리적인 rubbing에 의해 각질층의 lipid가 추출될 수 있으며 ethanol의 각질층 내로의 침투에 의해 lipid 구조가 변화되고 분배 성질이 영향을 받을 수 있다.<sup>27,28)</sup> 특히 각질층의 lipid 추출효과는 각질층의 두께를 감소시키는 효과를 나타내게 되어 실험조건인 pH 2.5에서 electroosmosis 효과를 감소시키고 electrorepulsion 효과를 증가시키게 된다. pH 2.5에서는 electroosmosis에 의해 electrorepulsion 효과가 억제되어 anodal delivery의 누적투과량이 cathodal delivery의 경우 보다 적게 나타났는데 ethanol 처리에 의한 electroosmosis 효과의 감소 때문에 anodal delivery가 특히 크게 증가한 것으로 사료된다.

## 결론

본 연구 결과 levodopa는 염기성 pH에서는 신속히 분해되나 산성 pH에서는 매우 안정하며 dextrose에 의해서 안정화가 일어남을 알았다. zwitterion인 levodopa의 이온토포레시스에 있어 단순확산에 의한 투과가 일반적으로 이온에 대해 예상되는 값보다 크게 나타남을 알았고 또한 용액 또는 하이드로겔의 pH에 따라 electroosmosis의 방향이 변화되며 electrorepulsion의 효과와 복합적으로 작용하여 투과도에 영향을 미침을 알았다. 이상의 연구 결과는 levodopa의 이온토포레시스는 한 가지 전하만을 가진 물질의 경우에 비해 매우 복잡하며 pH에 따라 electroosmosis와 electrorepulsion의 역할 및 그 크기가 변화되어 투과에 영향을 미침을 알려준다.

## 감사의 말씀

본 연구는 과학기술부 기초과학연구사업 (과제번호 R01-2006-000-10889-0)의 연구비 지원으로 수행되었습니다.

## 참고문헌

- 1) I. Shoulson, G.A. Glaubiger and T.N. Chase, On-off response. Clinical and biochemical correlations during oral and intravenous levodopa administration in parkinsonian patients, *Neurology*, **25**, 1144-1148 (1975).
- 2) J.G. Hardman, L.E. Limbird, P.D. Molinoff, R.W. Ruddon and A.G. Gilman, *Goodman and Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics, 9th ed.*, McGraw-Hill, New York, U.S.A., pp. 506-513, 1562, 1754 (1996).

- 3) M.A. Mena, V. Muradas, E. Bezan, J. Reiriz and J.G. de Yebenes, Pharmacokinetics of L-DOPA in patients with Parkinson's disease. *Adv. Neurol.*, **45**, 481-486 (1987).1996).
- 4) C.W. Olanow and W.C. Koller, An algorithm (decision tree) for the management of Parkinson's disease: treatment guidelines, *Neurology*, **50**(Suppl. 3), pp. S1-S57 (1998).
- 5) J.L. Juncos, Levodopa: pharmacology, pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Neurol. Clin.*, **10**(2), 487-509 (1992).
- 6) H.D. Kao, A. Traboulsi, S. Itoh and A. Hussain, Enhancement of the systemic and CNS specific delivery of L-dopa by nasal administration of its water soluble prodrugs, *Pharm. Res.*, **17**, 978-984 (2000).
- 7) R.C. Scott, R.H. Guy and J. Hadgraft, *Prediction of percutaneous penetration: Methods, Measurements and Modelling*, IBC technical Services, London, UK, pp. 19-33 (1990).
- 8) G.L. Flynn, R.L. Bronaugh and H.I. Maibach, *Percutaneous absorption*, Marcel Dekker, New York, U.S.A., pp. 27-51 (1989).
- 9) J. Jankovic and M. Stacy, Medical Management of Levodopa-Associated Motor Complications in Patients with Parkinson's Disease, *CNS drugs*, **21**(8), 677-692 (2007).
- 10) Y.N. Kalia, A. Naik, J. Garrison and R.H. Guy, Iontophoretic drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**, 619-658 (2004).
- 11) J.Y. Fang, K.C. Sung, H.H. Lin and C.L. Fang, Transdermal iontophoretic delivery of diclofenac sodium from various polymer formulations: in vitro and in vivo studies, *Int. J. Pharm.*, **178**, 83-92 (1999).
- 12) B. Langer, New methods of drug delivery, *Science*, **249**, 1527-1533 (1990).
- 13) A.M. Mathur, S.K. Moorjani and A.B. Scranton, Methods for synthesis of hydrogel networks: a review, *Macromol. Chem. Physics*, **C36**(2), 405-430 (1996).
- 14) M.D. Blanco, O. Garcia, R. Olmo, J.M. Teijon and I. Katime, Release of 5-fluorouracil from poly (acrylamide-co-monomethyl itaconate) hydrogels, *J. Chrom. B*, **680**, 243-253 (1996).
- 15) T. Kankkunen, I. Huuponen, K. Lahtinen, M. Sundell, K. Ekman, K. Konturi and J. Hirvonen, Improved stability and release control of levodopa and metaraminol using ion-exchange fibers and transdermal iontophoresis, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **16**(4-5), 273-80 (2002).
- 16) D.J. Stennett, J.M. Christensen, J.L. Anderson and K.A. Parrott, Stability of levodopa in 5% dextrose injection at pH 5 or 6, *Am. J. Hospital Pharm.*, **43**(7), 1726-1728 (1986).
- 17) J.E. Riviere and M.C. Heit, Electrically-assisted transdermal drug delivery, *Pharm. Res.*, **14**(6), 687-761 (1997).
- 18) V. Merino, A. Lopez, Y.N. Kalia and R.H. Guy, Electrorepulsion versus electroosmosis : effect of pH on the iontophoresis flux of 5-fluorouracil, *Pharm. Res.*, **16**(5), 758-761 (1999).
- 19) J.P. Hsu and B.T. Liu, Transport of ions through elliptic ion-selective membrane, *J. Memb. Sci.*, **142**(2), 245-255 (1998).
- 20) M.J. Pikal and S. Shah, Transport mechanisms in iontophoresis. III. An experimental the contributions of electroosmotic flow and permeability change in transport of low high molecular weight solutes, *Pharm. Res.*, **7**, 222-229 (1990).
- 21) R.H. Guy, Y.N. Kalia, M.B. Delgado-Charro, V. Merino, A. Lopez and D. Marro, Electrorepulsion and electroosmosis, *J. Control. Rel.*, **64**, 129-132 (1995).
- 22) B.D. Bath, H.S. White and E.R. Scott, Visualization and analysis of electroosmotic in hairless mouse skin, *Pharm. Res.*, **17**, 471-475 (2000).
- 23) D. Marro, R.H. Guy and M.B. Delgado-Charro, Characterization of the iontophoretic properties of human and pig skin, *J. Control. Rel.*, **70**, 213-217 (2001).
- 24) R.C. Scott, M. Walker and P.H. Dugard, A comparison of the in vitro permeability properties of human and some laboratory animal skins, *Int. J. Cosmetic Sci.*, **8**(4), 189-194 (1986).
- 25) M.J. Bartek, J.A. Labudde and H.I. Maibach, Skin permeability in vivo: comparison in rat, rabbit, pig and man, *J. Inv. Dermatol.*, **58**, 114-123 (1972).
- 26) R.V. Kulkarni, D. Hiremath and P. Sagar, Skin deep: terpenes can enhance drug permeation, *Pharmaceutical formulation & quality*, Oct./Nov., Carpe Diem-A Wiley Co., Hoboken, New Jersey, U.S.A. (2007).
- 27) S. K. Rastogi and J. Singh, Lipid extraction and transport of hydrophilic solutes through porcine epidermis, *Int. J. Pharm.*, **225**, 75-82 (2001).
- 28) E. Manabe, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, Analysis of skin penetration enhancing effect of drugs by ethanol-water mixed systems with hydrodynamic pore theory, *Int. J. Pharm.*, **129**, 211-221 (1996).