

## 항에이즈 약물의 경피흡수에 미치는 합성고분자 멤브레인의 영향

이경진\* · 김대덕† · Yie W. Chien\*

부산대학교 약학대학, \*러거스대학교 약학대학  
(1997년 12월 13일 접수)

## The Effect of Synthetic Polymer Membranes on the Skin Permeation of Anti-AIDS Drugs

Kyungjin Lee\*, Dae-Duk Kim† and Yie W. Chien\*

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea  
\*College of Pharmacy, Rutgers-The State University of New Jersey,  
Piscataway, NJ 08854, USA

(Received December 13, 1997)

The effect of synthetic polymer membranes on the permeation rate of dideoxynucleoside-type anti-HIV drugs through hairless rat skin was studied using ethylene/vinyl acetate copolymer (EVA) and ethylene/methyl acrylate copolymer (EMA) membranes fabricated by solvent casting method. In vitro skin permeation kinetics study of DDC (2',3'-dideoxythymidine), DDI (2',3'-dideoxyinosine) and AZT (3'-azido-3'-deoxythymidine) across the (membrane/skin) composite was conducted for 24 hours at 37°C using the Valia-Chien skin permeation system. The results showed that skin permeation rate of each drug across the (skin/membrane) composite was mainly dependent on the property of the membrane. Proper selection of the polymeric membrane which resembles hydrophilicity/lipophilicity of the delivering drug was important in controlling the skin permeation rate.

**Keywords**—AIDS, Skin permeation, Transdermal, Polymeric membrane

Human immunodeficiency virus (HIV)의 감염으로 발병하는 후천성 면역결핍증(Acquired Immuno-deficiency Syndrome, AIDS)은 금세기의 흑사병으로 불릴 만큼 세계적으로 치명적인 영향을 미치고 있다. 그러나 많은 연구에도 불구하고 현재로서는 아직 특별한 치료법이 개발되어 있지 않고 reverse transcriptase 억제제인 2',3'- dideoxynucleoside 유도체나 HIV protease 억제제 정도가 치료에 사용되고 있는 실정이다. DDC(2',3'-dideoxycytidine), DDI (2',3'-dideoxyinosine), 그리고 AZT(3'-azido-3'-deoxythymidine) 등은 reverse transcriptase를 억제하여 항에이즈 효과를 나타내는 대표적인 약물로서 미국 FDA의 승인을 얻어서 현재 임상적으로 가장 널리 사용되고 있다. 그러나, 이러한 약물들은 주로 경구나 정

맥주사로 투여되고 있는데, 생체내 반감기가 약 1시간 정도로 매우 짧고<sup>1)</sup> 간에서의 초회 통과 효과(hepatic first-pass effect)가 높으므로 경구투여의 경우 생체이용률(bioavailability)이 낮은 편이다.<sup>1,2)</sup> AIDS와 같이 virus에 의한 감염을 치료하기 위해서는 유효혈중농도 이상의 농도를 항상 유지해 주어야 하는데,<sup>3)</sup> 이를 위해 과량의 약물을 자주 투여해야 하는 불편함이 있으며 이로 인한 부작용이 치료의 큰 장벽으로 알려져 있다.<sup>4)</sup> 따라서 이러한 약물을 경구나 주사제가 아닌 non-invasive 경로를 통해서 영차속도로 투여한다면 치료 효과도 상승시키고 약물에 의한 독성도 감소시켜 에이즈 치료효과를 크게 개선시킬 수 있을 것이다.

본 연구실에서는 최근에 피부를 통한 항에이즈 약물의 투여 가능성을 연구해 오고 있는데,<sup>4,5)</sup> 물과 에탄올을 40 대 60으로 섞은 혼합액에 DDC, DDI 혹은 AZT를 포화시키고 1.0%(v/v) oleic acid를 첨가한 경우 이들

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

약물의 경피흡수 속도가 극적으로 증가한다고 보고한 바 있다.<sup>4,6,7)</sup> 일반적으로 합성고분자 멤브레인을 이용하여 경피흡수속도를 조절할 경우 피부의 적용부위나 개체 차에 의한 변수를 없앨 수 있고 또한 장시간 동안 영속도 방출을 이룰 수 있는 장점이 있다. 따라서, 본 연구에서는 이들 약물의 경피흡수속도를 합성고분자 멤브레인을 통해서 조절하기 위한 가능성을 시험하고자 한다.

## 실험방법

### 시료 및 기기

DDC, DDI, 그리고 AZT는 Hoffmann-LaRoche (Nutley, NJ), Bristol-Myers Squibb(Wallingford, CT), 그리고 Burroughs Wellcome Co. (Research Triangle Park, NC)로 부터 각각 공급받았다. Ethylene/vinyl acetate(EVA) copolymer 수지 (28% vinyl acetate)는 Dupont사(Wilmington, DE)로 부터 공급받았고, ethylene/methyl acrylate (EMA) copolymer 수지는 Chevron사(Richmond, CA)에서 공급받았다. 이외의 모든 시약은 특급 혹은 일등급을 사용하였다.

### 고분자 멤브레인의 제조

EVA 혹은 EMA 수지를 trichloroethylene에 넣어 약 10-20%(w/v)를 만든 후 50°C에서 60분간 교반하여 완전히 녹였다. 이 용액을 Teflon 코팅된 release liner(3M, St. Paul, USA)의 표면에 붓고 laboratory coater(Werner-Mathis AG, Zurich, Germany)를 사용하여 일정한 두께의 막을 형성시켰다. 각각의 막을 fume hood에서 일정속도의 공기를 불어 넣으면서 24시간 이상 실온에서 건조시켰다. 완성된 EVA 및 EMA 막의 두께는 micrometer로 측정하였고, 각 멤브레인에 증류수를 한 방울씩 떨어뜨린 후 NRL C.A. Goniometer(model A-100, Ramé-Hart Inc., Mountain Lake, NJ)를 사용하여 접촉각(contract angle)을 측정하였다. 막의 두께와 접촉각은 각각 5군데씩을 반복 측정한 후 평균값을 취했다.

### 실험동물 및 처치

Fuzzy strain hairless rat(암컷, 5-6주)를 Harlen Sprague Dawley에서 구입하여 사용하였다. 신선한 피부를 얻기 위해 실험 당일에 이산화탄소로 질식사시키고 등쪽 피부를 조심스럽게 절개하여 생리식염수로 세척한 후 약 4 cm<sup>2</sup> 크기로 잘라서 경피흡수 실험에 사용하였다.

### In vitro 경피흡수 실험

Valia-Chien 경피흡수 실험장치를 사용하여 37°C에서 24시간 동안 각 약물의 흡수 kinetics를 *in vitro* 상에서 측정하였다. 신선한 등쪽 피부를 절개하여 흡수실험장치에 설치한 후, EVA 혹은 EMA 멤브레인을 각질층 위에 추가하였다. Ethanol과 물의 혼합액(60:40, w/w)에 각 약물 (DDC, DDI 혹은 AZT)을 과량 넣고 oleic acid를 1.0%(v/v) 넣은 후 37°C의 진탕기에서 48시간 포화시킨 용액을 피부 각질과 접한 donor 쪽에 3.5 ml 넣었다. 진피와 접한 receptor 쪽은 약물의 분해를 막기 위해 DDC 경우 0.01%(w/v) gentamicin sulfate를, DDI의 경우 *p*-chloromercuribenzoic acid를 함유한 isotonic phosphate buffer (pH 7.4)용액을 3.5 ml 넣었다.<sup>5)</sup> 일정 시간 간격으로 receptor용액으로부터 0.1-2 ml의 시료를 취하고 동량의 신선한 receptor 용액을 채워 넣었다. 시료는 냉동고(-20°C)에 보관한 후 HPLC로 분석하였다.

### HPLC 약물분석

시료 중의 DDC, DDI, 및 AZT의 농도는 다음과 같은 HPLC법으로 측정하였다. 이동상은 DDC, DDI, 및 AZT의 분석을 위해 각각 5, 10, 20%(v/v)의 acetonitrile을 인산완충액(pH 7.0, 20 mM)과 혼합하여 1.0 ml/min의 유속으로 흘렸다. 칼럼은 HP Hypersil ODS(5 μm, 200×4.6 mm, Hewlett Packard)을 37°C 항온에서 사용하였고, 15 μl의 시료를 주입한 후 UV 265 nm에서 분석하였다. 이상의 조건에서 DDC, DDI, 및 AZT은 각각 3.89, 3.85, 및 4.18 분에서 검출되었다.

## 결과 및 고찰

본 실험에 사용하기 위해 제조된 EVA 및 EMA 멤브레인의 두께 및 증류수에 대한 접촉각을 Table I에 나타내었다. EVA 및 EMA 멤브레인의 접촉각은 각각 42.1 및 78.6으로서 두 멤브레인 모두 대체로 친수성(hydrophilic)을 나타냈으며 EVA 멤브레인의 경우 EMA 보다 친수성이 더 높았다. EVA와 EMA 멤브레인의 두께는 각각 75와 25 μm로서 EVA 멤브레인이 3배정도 두꺼웠다.

Hairless rat의 피부에 각 멤브레인을 붙인 composite를 통한 DDC, DDI 및 AZT의 경피흡수속도를 측정한 결과는 Table II와 같다. 에탄올은 가장 보편적으로 사용되는 경피흡수촉진제의 하나로서,<sup>9)</sup> 특히 oleic acid와 함께 사용할 경우 지용성 약물은 물론 수

**Table I**—Contact Angle and Thickness of EVA and EMA membranes

	Contact angle (degree)	Thickness (μm)
EVA	42.08 (±2.40)	75 (±5.1)
EMA	78.68 (±1.24)	25 (±5.0)

Each value represents the mean±SD of five determinations

**Table II**—Permeation rate of DDC, DDI and AZT across the (Hairless Rat Skin/Membrane) Composite<sup>a)</sup>

Drug	Permeation rate (μg/cm <sup>2</sup> /hr)	
	EVA	EMA
DDC	0.29 (±0.11)	0.15±(0.07)
DDI	0.40 (±0.11)	1.28±(0.11)
AZT	0.12 (±1.32)	21.18±(13.62)

Each value represents the mean±SD of three determinations

<sup>a)</sup> Each drug was saturated in ethanol/water (60:40, v/v) cosolvent system containing 1.0% (v/v) oleic acid at 37°C

용성 약물의 경피흡수속도를 더욱 상승시키는 것으로 알려져 있다.<sup>10)</sup> 각 약물을 에탄올과 물의 60대40 혼합액에 포화시키고 1.0%(v/v) oleic acid를 흡수촉진제로 사용한 결과 두 가지 멤브레인의 경우 모두에서 AZT의 경피흡수속도가 가장 높았으며 DDC가 가장 낮았고 이러한 현상은 상대적으로 지용성이 높은 EMA 멤브레인을 사용한 경우 더욱 현저하였다.

일반적으로 피부를 통한 약물의 흡수는 수동확산에 의해 일어나며 Fick의 확산식으로 가장 잘 나타낼 수 있다. 이 식에 의하면 정상상태(steady-state)에서 (membrane/skin) composite를 통한 약물의 흡수속도( $J_{ss}$ )는 다음과 같은 식으로 표시된다.

$$J_{ss} = P_{m/s} \cdot C_d \quad (1)$$

**Table IV**—Permeability Coefficient of DDC, DDI, and AZT across (Hairless Rat Skin/Membrane) Composite and Membrane Alone<sup>a)</sup>

Drug	(Skin/membrane) composite <sup>b)</sup> [(cm/hr)×10 <sup>6</sup> ]		Membrane alone <sup>c)</sup> [(cm/hr)×10 <sup>6</sup> ]	
	EVA	EMA	EVA	EMA
DDC	2.40 (±0.91)	1.27 (±0.59)	2.40	1.27
DDI	5.79 (±1.59)	18.55 (±1.58)	5.80	18.57
AZT	18.50 (±5.93)	95.11 (±61.17)	18.53	95.87

Each value represents the mean±SD of three determinations

<sup>a)</sup> Each drug was saturated in ethanol/water (60:40, v/v) cosolvent system containing 1.0% (v/v) oleic acid

<sup>b)</sup> Calculated from equation (1)

<sup>c)</sup> Calculated from equation (2)

여기서  $P_{m/s}$ 는 (membrane/skin) composite의 permeability coefficient이고  $C_d$ 는 용매에 대한 용해도이다. 한편,  $P_{m/s}$ 는 membrane permeability coefficient ( $P_m$ ) 및 skin permeability coefficient( $P_s$ )와 다음과 같은 상관 관계가 있다.

$$\frac{1}{P_{m/s}} = \frac{1}{P_m} + \frac{1}{P_s} \quad (2)$$

즉,

$$P_{m/s} = \frac{P_m P_s}{P_m + P_s} \quad (2)'$$

경피흡수촉진제로서 1.0%(v/v) oleic acid를 함유한 에탄올/물 (60:40) 혼합액에 대한 DDC, DDI 및 AZT의 용해도 및  $P_s$ 는 저자 등이 이미 보고한 바 있으므로(Table III),<sup>4)</sup> 식 (1)로 부터  $P_{m/s}$ 를 계산하고 그 값을 식 (2)에 대입하여 계산한  $P_m$  값을 Table IV에 나타내었다.

문헌에 보고된 각 약물의 octanol/water 분배계수에 의하면(Table V), DDC가 가장 수용성이 높고 AZT가 가장 지용성이 높은 것으로 알려져 있다.<sup>11,12)</sup>

**Table III**—Permeability coefficient of DDC, DDI, and AZT across Hairless Rat Skin and Their Saturated Solubility in Ethanol/Water (60:40, v/v) Cosolvent System Containing 1.0% (v/v) Oleic Acid at 37°C<sup>a)</sup>

Drug	Permeability coefficient [(cm/hr)×10 <sup>3</sup> ]	Solubility (mg/ml)
DDC	15.5673 (±1.0095)	121.08 (±2.36)
DDI	23.9932 (±4.5565)	69.04 (±2.29)
AZT	12.0247 (±1.1181)	222.71 (±2.44)

Each value represents the mean±SD of three determinations

<sup>a)</sup> Data from reference (4)

**Table V**—Intrinsic Permeability Coefficient of DDC, DDI and AZT across EVA and EMA Membrane and Octanol/water Partition Coefficient (K)

Drug	Intrinsic permeability coefficient [cm <sup>2</sup> /hr]×10 <sup>8</sup>		log K <sup>a)</sup>
	EVA	EMA	
DDC	1.80	0.32	-1.260
DDI	4.35	4.64	-1.167
AZT	13.90	23.97	0.038

<sup>a)</sup>Data from reference (10)

피부를 통한 약물의 skin permeability coefficient ( $P_s$ )는 약물의 지용성과는 상관관계가 뚜렷하지 않았으나 (Table III), (membrane/skin) composite를 통한 약물의 투과성은 약물의 지용성이 증가할수록 증가하였으며 (Table IV) 지용성이 높은 EMA를 사용했을 때가 EVA보다 그 효과가 더욱 뚜렷하였다.

Skin의 permeability( $P_s$ )가 멤브레인의 permeability ( $P_m$ ) 보다 굉장히 큰 경우, 즉  $P_s \gg P_m$  일때 식 (2)는  $P_m/s \approx P_m$ 과 같아지며 이것을 식 (1)에 다시 대입하면 다음과 같은 식 (3)을 얻게된다.

$$J_{ss} \approx P_m \cdot C_d \quad (3)$$

이러한 경우에는(membrane/skin) composite를 통한 약물의 투과는 멤브레인의 permeability( $P_m$ )에 의해 좌우되게 된다. 본 연구에서도 DDC, DDI 및 AZT의 skin permeability는 membrane permeability보다 약 1000배정도 크므로 (Table III,과 IV), 멤브레인을 통한 약물의 투과도가 composite를 통한 약물의 흡수속도를 결정하게 될 것이다. 실제로 Table IV에서와 같이 각 약물의  $P_m$  값은  $P_m/s$  값과 거의 일치하고 있다. 따라서, 지용성이 상대적으로 높은 EMA 멤브레인을 사용할 경우 지용성이 높은 AZT는 멤브레인의 친화도가 DDC보다 높으므로 멤브레인으로서의 분배가 증가하여 composite를 통한 각 약물의 흡수속도가 현저히 증가한 것으로 추측된다. 또한, 수용성이 상대적으로 높은 EVA 멤브레인을 사용한 경우는 반대로 수용성이 높은 DDC와 멤브레인의 친화도가 AZT보다 높으므로 EMA 멤브레인 보다 높은 흡수속도를 나타낸 것으로 생각된다.

멤브레인의 두께( $h_m$ )에 대한 차이를 보정하기 위하여 intrinsic permeability coefficient( $(P_m)_i$ )를 다음과 같이 정의하고,<sup>13)</sup> 각 약물의 ( $P_m$ )<sub>i</sub> 값을 Table V에 종합하였다.

$$(P_m)_i = P_m \times h_m \quad (4)$$

약물의 지용성이 증가할수록 멤브레인에 대한 intrinsic permeability는 증가하는 추세를 보였는데, 수용성이 가장 큰 DDC의 경우 상대적으로 수용성이 높은 EVA 멤브레인에 대한 intrinsic permeability가 EMA 멤브레인에 대한 값보다 높았으나, 지용성이 가장 높은 AZT의 경우는 반대로 상대적으로 지용성이 높은 EMA 멤브레인에 대한 intrinsic permeability가 EVA 멤브레인에 대한 값보다 높았다. 따라서 피부를 통한 약물의 흡수속도를 극대화시킨 후 합성고분자 멤브레인의 선택에 따라 약물의 경피흡수를 조절할 수 있으며, 약물과 친화도가 높은 멤브레인을 선택함으로써 약물의 intrinsic permeability를 증가시켜서 경피흡수속도를 증가시키는 것이 가능할 것으로 사료된다.

## 결론

Oleic acid를 1.0%(v/v) 함유한 에탄올/물(60:40) 혼합액에 DDC, DDI, 및 AZT를 각각 포화시킨 후 hairless rat skin을 통한 경피흡수를 관찰한 결과, EVA 혹은 EMA와 같은 합성고분자 멤브레인을 사용하여 각 약물의 경피흡수를 조절함으로써 피부간의 개체 차를 최소화할 수 있을 것으로 사료되었다. 이때, 상대적으로 수용성이 높은 DDC에 대해서는 지용성이 낮은 EVA 멤브레인을 사용하는 것이 경피흡수속도를 높일 수 있고, 지용성이 높은 AZT의 경우는 반대로 지용성이 높은 EMA 멤브레인이 permeability를 보다 높일 수 있는 것으로 관찰되었다.

## 문헌

- 1) S. J. Matthews, R. J. Cersosimo and M. L. Spivack, Zidovudine and other reverse transcriptase inhibitors in the management of human immunodeficiency virus-related disease, *Pharmacotherapy*, **11**, 419-449 (1991).
- 2) M. J. Shelton, A. M. O'Donnell and G. D. Morse, HIV and AIDS: Didanosine, *Ann. Pharmacother.*, **26**, 660-670 (1992).
- 3) Y. W. Chien and L. L. Wearley, AIDS and chemotherapy, *Drugs Today*, **25**, 19-25 (1989).
- 4) D. D. Kim and Y. W. Chien, Transdermal delivery of dideoxynucleoside-type anti-HIV drugs. 2. The effect of vehicle and enhancer on skin permeation, *J. Pharm. Sci.*, **85**(2), 214-219 (1996).
- 5) D. D. Kim and Y. W. Chien, Transdermal de-

- livery of dideoxynucleoside-type anti-HIV drugs.  
1. Stability for hairless rat skin permeation, *J. Pharm. Sci.*, **84**(9), 1061-1066 (1995).
- 6) D. D. Kim and Y. W. Chien, Transdermal delivery of zalcitabine (DDC) : In vitro skin permeation study, *AIDS*, **9**, 1331-1333 (1996).
  - 7) D. D. Kim and Y. W. Chien, Simultaneous skin permeation of dideoxynucleoside-type anti-HIV drugs, *J. Controlled Rel.*, **40**, 67-76 (1996).
  - 8) D. D. Kim and Y. W. Chien, Comparison of skin permeation of dideoxynucleoside-type anti-HIV drugs: Alone versus combination, *Drug Devel. Ind. Pharm.*, **22**(11), 1047-1054 (1996).
  - 9) A. C. Williams and B. W. Barry, Skin absorption enhancers. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Sys.*, **9**, 305-353 (1992).
  - 10) D. D. Kim, J. L. Kim and Y. W. Chien, Mutual hairless rat skin permeation-enhancing effect of ethanol/water system and oleic acid. *J. Pharm. Sci.*, **85**, 1191-1195 (1996).
  - 11) A. P. Cheung and D. Kenny, Partition coefficient and capacity factors of some nucleoside analogues, *J. Chromatogr.*, **506**, 119-131 (1990).
  - 12) B. D. Anderson, M. B. Wygant, T. Xiang, W. A. Waugh and V. J. Stella, Preformulation solubility and kinetic studies of 2',3'-dideoxynucleosides: potential anti-AIDS agents, *Int. J. Pharm.*, **45**, 27-37 (1988).
  - 13) G. S. Chen, D. D. Kim and Y. W. Chien, Dual-controlled transdermal delivery of levonorgestrel and estradiol: enhanced permeation and modulated delivery, *J. Controlled Rel.*, **34**, 129-143 (1995).