

케토프로펜의 피부투과도를 증진시키는 다양한 용매의 작용기전

조영주 · 최후균*

조선대학교 약학대학

(1998년 7월 20일 접수)

Mechanism of Action of Various Vehicles That Enhance the Permeation of Ketoprofen

Young-Joo Cho and Hoo-Kyun Choi*

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

(Received July 20, 1998)

The effect of various vehicles on the permeation of a model drug, ketoprofen in solution formulation was evaluated using a flow-through diffusion cell system at 37°C. To investigate the mechanism of permeation rate enhancement, the effects of pretreatment with various vehicles on the permeation of the drug were evaluated using 5 mg/ml solution and saturated solution. The order of permeation rate of ketoprofen across hairless mouse skin after pretreatment with various vehicles was similar to the case where the vehicles and the drug were coadministered except ethanol and oleic acid. The results indicate that the mechanism of enhancement can be direct action of the vehicles on the barrier property of the skin and/or carrier mechanism.

Keywords—Percutaneous absorption, Vehicle, Pretreatment, Ketoprofen

경피흡수제제를 개발하기 위해서 가장 관심을 가져야 하는 부분은 투여경로로 사용하고 있는 피부라고 할 수 있다. 피부는 본래 외부로부터의 이물질의 침입이나 체내로부터의 수분증발을 막는 장벽으로서 작용하는 기능을 가지고 있기 때문에 경피흡수를 통해 유효혈중농도를 유지할 수 있을 만큼 높은 투과력을 가진 약물은 그리 많지 않다. 이런 피부의 장벽 기능을 주로 담당하는 부위는 피부의 최외층에 존재하는 각질층으로 이 부위는 multilamellar lipid domain에 존재하는 단백질이 풍부한 세포들이 규칙적으로 배열되어 있어 이물질의 투과에 저항을 보이고 있다.¹⁾ 이런 피부의 장벽기능을 극복하고 약물의 피부흡수를 촉진시키기 위해 각질층에 가역적으로 작용하는 화학적 흡수촉진제가 널리 사용되고 있다.²⁾ 화학적 흡수촉진제로 흔히 사용되는 유기용매는 일반적으로 각질층의 장벽기능에 영향을 주어 피부를 통한 약물흡수를 증가시키거나 각질층으로의 약물의 분배를 증가시키는 작

용양상을 가지고 있다.³⁾ 지금까지 매우 많은 흡수촉진제가 연구되어 왔으나 실제로 임상적으로 사용 가능한 흡수촉진제는 그 자체의 독성으로 인하여 매우 제한적이라 할 수 있다. 이번 실험에서는 모델 약물로 비스테로이드성 소염진통제인 케토프로펜을 사용해 임상적으로 사용 가능한 흡수촉진제를 중심으로 이들의 작용기전이 피부장벽에 대한 영향인지 carrier기전에 의한 것인지의 여부를 피부를 용매로 전처리한 후 약물을 투과시킨 경우와 용매와 약물을 동시에 투과시험에 사용한 경우를 비교함으로써 알아보았다.

실험방법

시약

케토프로펜은 제일약품(Seoul, Korea)으로부터 공급을 받았다. Labrafil 2609[®]는 Gattepossé Korea (Seoul, Korea)에서 구하였다. 그 외 모든 시약들은 제조회사로부터 최상급의 시약을 구입하여 사용하였다.

시험용액의 제조

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

케토프로펜의 피부 투과도에 대한 여러 가지 용매의 영향을 알아보기 위해 과량의 약물을 인산완충용액 또는 각 시험용매에 가한 후 24시간 동안 상온에서 진탕 수조에서 흔들어 포화용액을 제조하였다.

확산실험

피부투과도를 측정하기 위하여 Flow-through diffusion cell system을 이용하였다. Flow-through cell system을 이용한 확산 실험 장치는 순환식 항온 수조(RB-10, Jeio Tech, Korea), 분획수집기(Retriever IV, ISCO Inc., NE), peristaltic pump(205S, Watson Marlow, UK), 및 flow-through diffusion cell로 구성되어 있다. Receiver cell의 표면적은 2 cm^2 이고 내부 부피는 5.5 ml 이었다. Peristaltic pump와 분획수집기(fraction collector)를 연결하고 receiver cell에 pH 7.4인 인산염완충액을 채운 다음 magnetic bar를 이용하여 균질하게 혼합하였다. 먼저 hairless mouse에서 피부를 떼어내어 scalpel과 가위를 이용하여 피하지방을 제거하고 적당한 크기로 자른 후 진피가 receiver cell을 향하도록 하여 receiver cell위에 놓고 O-ring과 top cell을 표피 위에 장착한 후 pinch clamp를 이용하여 고정시켰다. Receiver cell은 순환식 항온 수조를 이용하여 37°C 를 유지시켰으며 평형상태에 도달하도록 약 30분간 방치하였다. 용매로 전처리 실험을 하기 위하여 먼저 receiver cell위의 skin에 각 전처리용매를 $300\ \mu\text{l}$ 씩 도포하여 60분간 처리한 후 에탄올 용액으로 용매를 닦아내었다. 그런 후 케토프로펜이 포화된 인산완충용액 $300\ \mu\text{l}$ 를 전처리 한 피부에 도포 하였다. 이와 동시에 60분간 용매 전처리 없이 방치한 피부 위에 미리 여러 가지 용매로 제조한 5 mg/ml 케토프로펜 용액을 각각 $300\ \mu\text{l}$ 씩 도포 하였다. 시료는 3시간 간격으로 채취하여 HPLC로 정량 하였다.

피부투과자료처리

다음과 같은 방정식을 피부를 투과한 약물의 양을 계산하기 위해 사용하였다.⁴⁾

$$M_n = C \times V + \frac{S_n}{2} + \sum_{i=1}^n S_i \quad (n \geq 2)$$

$$M_n = C \times V + \frac{S_1}{2} \quad (n = 1)$$

여기서, M_n 은 투과된 약물 양

C 은 receiver cell의 농도

V 은 receiver cell의 부피

S_n 은 n 번째 샘플에 있는 총 약물 양

정량

케토프로펜은 HPLC를 이용하여 분석하였다. 검출기의 파장은 자외부 250nm 를 사용하였고 유속은 1 ml/min 이었으며 이동상은 메탄올:물:인산 $80:20:0.1$ 로 구성되었다. 고정상으로는 Alltima C8(Alltech Associates Inc., IL)을 사용하였으며 thin foil temperature controller(CH 1445, SYSTEC Inc., MN)를 이용하여 30°C 로 유지시켜 주었다.

결과 및 고찰

약물의 피부투과속도(flux)는 용매 내에서의 약물의 열역학적활성도에 비례한다. 따라서 최대활성도를 나타내는 동일한 약물의 포화용액의 경우, 이론적으로는 용매의 종류에 관계없이 동일한 피부투과속도를 나타내게 된다.⁵⁾ 여기서 한가지 유의할 점은 상기의 논리는 용매가 피부구조에 영향을 주지 않는다는 가정하에서 성립한다는 것이다. 그러나 통상 흡수촉진제로 사용되는 용매들은 약물의 용해도를 증가 시켜 피부흡수를 촉진시킬 수도 있으나 약물이 침투해 들어가야 하는 피부구조에 변화를 준다고 알려져 있다. 이전의 실험에서는 여러 가지 용매가 5 mg/ml 케토프로펜용액에 사용되었을 때 용매들의 피부투과도에 대한 영향을 알아보았다.⁶⁾ 이론적으로는 포화용액에 가까울수록 높은 피부투과속도를 나타내야 한다. 다시 말하면 고정된 농도를 사용할 경우 용해도가 낮을수록 높은 피부투과속도를 나타내야 한다. 그러나 실험 결과 케토프로펜의 용해도와 피부투과속도 사이에 밀접한 상관관계는 나타나지 않았다. 즉 이는 용매가 피부 구조에 변화를 주었거나 용매가 피부를 투과하는 과정에서 용해된 약물이 함께 투과되었음을 시사하고 있다. 위의 결과를 바탕으로 이들 용매의 피부흡수 촉진의 기전을 밝히기 위하여 용매들의 전처리 효과를 알아보았다. Table I은 먼저 용매로 60분간 전처리한 후 인산완충용액에 포화된 케토프로펜을 적용시킨 경우와 용매 전처리 없이 방치한 피부 위에 여러 가지 용매의 케토프로펜 5 mg/ml 용액을 적용시킨 경우의 최대투과속도, 21시간 동안 투과된 양, 그리고 여기에 사용된 용매에서의 케토프로펜의 용해도를 나타낸 것이다. 최대투과속도는 각각의 경우 가장 높은 투과도를 나타내는 부분의

Table I. Permeation Parameters for Ketoprofen in Various Vehicles across Hairless Mouse Skin

Vehicles	Pretreatment		Coadministration		Solubility (mg/ml)
	Maximum flux (µg/cm ² /hr)	Cumulative amount(21 hrs) (µg/cm ²)	Maximum flux (µg/cm ² /hr)	Cumulative amount(21 hrs) (µg/cm ²)	
Oleyl alcohol	23.1±11.9	420±163	5.10±1.7	119±33.5	47.7±5.6
PG ¹ : OA ² (1:1)	24.7± 7.9	437±167	18.5± 5.7	316±109	187±9.3
PG	7.85± 4.4	234±132	2.19±2.4	14.8±2.0	199±104
Ethanol	4.15±1.97	143±60.9	33.6±28.8	420±157	459±27.9
Octanol	36.6±20.5	473±208	25.5±10.9	449±196	139±7.0
Oleic acid	37.1±13.3	474±203	8.27±2.9	237±80.7	24.9±4.4
IPM ³	24.7±12.2	457±215	8.48±3.4	257±82.3	15.0±4.7
Labrafil 2609	13.1± 5.3	371±159	2.01±1.0	33±15.7	91.3±9.8

¹propylene glycol, ²oleyl alcohol, ³isopropyl myristate

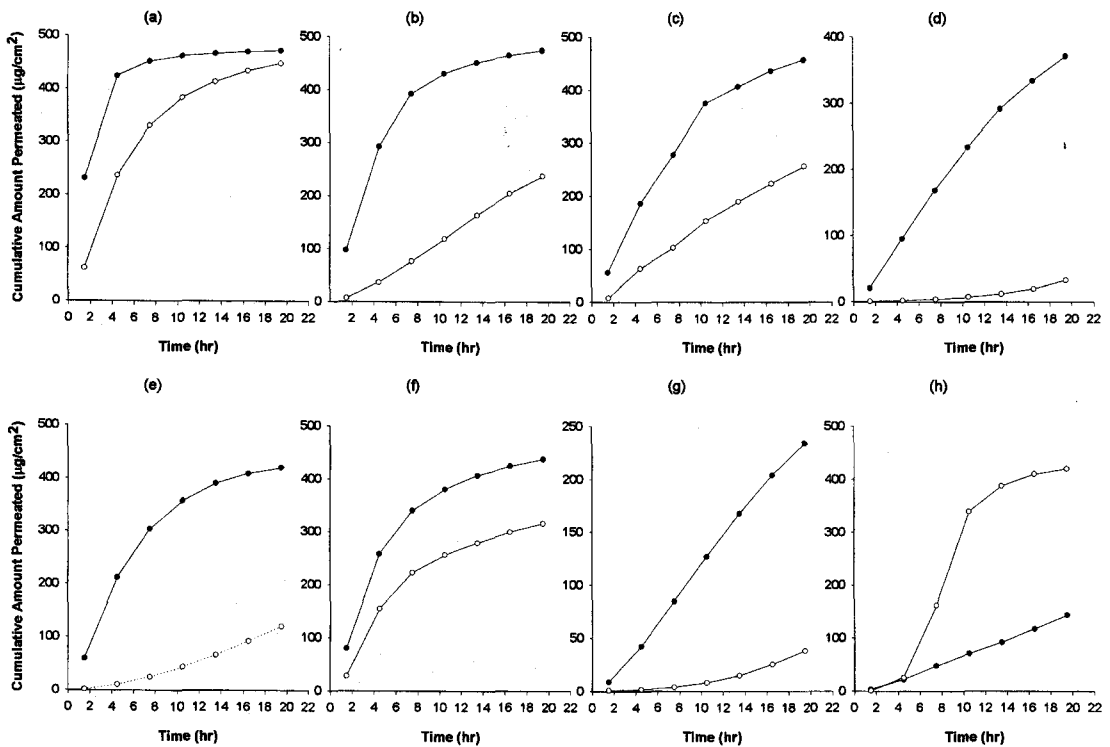


Figure 1—Effect of pretreatment on the permeation profiles of ketoprofen across hairless mouse skin. Each point represents average of three measurements. Key: ●: pretreatment, ○: coadministration, (a) : octanol, (b) : oleic acid, (c) : isopropyl myristate, (d) : Labrafil 2609, (e) : oleyl alcohol, (f) : propylene glycol/oleyl alcohol (1:1), (g) : propylene glycol, (h) : ethanol

기울기로부터 구했는 데 이처럼 최대투과속도를 비교한 이유는 실험에 사용한 용매에 따라서 그 투과되는 양상이 현저히 다르고 용매에 따라서는 정상상태를 확인하기 어려웠기 때문이다. 이러한 결과는 용매가 피부 구조에 영향을 주었거나 약물의 추진력(driving force)이 감소되었기 때문인 것으로 생각된다.⁶⁾ Figure 1은

용매로 전처리한 후 약물을 투과 시킨 경우와 용매와 약물을 동시에 투과시험에 사용한 경우를 용매별로 시간에 따라 투과된 양을 나타낸 것이다. 전처리한 후 약물을 투과 시킨 경우의 최대 투과속도는 oleic acid > octanol > isopropyl myristate(IPM) > propylene glycol(PG)/oleyl alcohol(OA)(1:1) > oleyl alcohol >

Labrafil® 2609>PG>ethanol순이고 용매와 약물을 동시에 투과시험에 사용한 경우는 최대투과속도가 ethanol>octanol>PG/OA(1:1)>IPM>oleic acid>oleyl alcohol>PG>Labrafil® 2609순으로 나타났다. 용매로 먼저 전처리한 후 약물을 투과시킨 경우와 용매와 약물을 동시에 투과시험에 사용한 경우의 두 가지 실험결과를 비교해 볼 때 ethanol의 경우를 제외하고 모든 용매에서 전처리 후 약물을 투과시킨 경우가 용매와 약물을 동시에 사용한 경우에 비해 더 높은 피부투과속도를 나타냈다. 전처리군과 동시투여군에서 용매들 사이의 최대투과속도 순위를 비교해 보면 ethanol과 oleic acid의 경우를 제외하고는 전반적으로 유사한 순위를 나타냈다. 그에 반해 전처리에서 높은 투과속도를 보인 oleic acid는 동시투여군에서 훨씬 낮은 투과속도를 보였다. 전처리한 경우에는 가장 낮은 투과속도를 보였던 ethanol은 동시투여시에는 octanol과 거의 동일한 정도의 높은 피부투과속도를 나타냈다. 동시투여시 ethanol은 특징적인 긴 지연시간이 있는 후 급격히 투과속도가 증가하는 것을 볼 수 있는데 이는 ethanol의 피부구조에 대한 작용이 서서히 일어나기 때문으로 사려된다. ethanol의 경우 전처리 시간을 2시간까지 연장하여도 피부투과도는 거의 변하지 않았다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 ethanol이 어느 정도 피부구조에 변화를 야기시키나 ethanol이 피부를 통과할 때 약물도 함께 투과하는 carrier mechanism도 많이 작용한 것으로 사려된다. 또한 ethanol증발로 인한 활성도의 증가도 투과도 증가에 영향을 주었을 것으로 판단된다.

전처리 후 약물을 투과시킨 경우는 케토프로펜이 포화된 인산완충용액을 사용했기 때문에 열역학적활성도는 동일하였다. 따라서 전처리 용매에 따라 피부투과속도의 차이를 보인 것은 각각의 용매에 의한 피부구조 변화의 정도가 달랐기 때문인 것으로 생각된다. 사용한 용매 중 octanol과 oleic acid가 피부구조를 가장 많이 변화시킨 것으로 나타났다. 60분 동안 전처리한 후 용매를 제거하고 그 후 바로 케토프로펜이 포화된 인산완충용액을 도포 했기 때문에 케토프로펜 인산완충용액이 피부에 도포 될 때 소량의 잔류 용매가 남아 영향을 미칠 수도 있으나 피부투과도 변화는 대부분 전처리 과정에서 용매가 피부 구조에 변화를 주었기 때문으로 사려 된다. 따라서 도포 된 약물은 이미 용매에 의해 변화된 피부를 통해 투과를 시작한다고 볼 수 있다. 전반적으로 전처리군에서 동시투여군보다 피부투과속도가 높게 얻어지는 이유는 케토프로펜의 열역

학적 활성도가 전처리군에서 사용된 인산완충용액에서 동시투여군에서 사용된 여러 가지 용매에 비해 현저히 높아 용매가 피부구조에 미친 영향보다 활성도에 의한 영향이 피부투과속도에 더 많은 영향을 준 것으로 사려된다.

동시 투여군의 경우는 공존하는 용매에 의해 피부구조가 지속적으로 변화될 수도 있으며 동시에 용매가 피부를 투과하는 과정에서 약물이 함께 투과되는 carrier mechanism도 작용할 수 있다. 이와 같은 논리를 확인하기 위해 IPM과 oleic acid에 케토프로펜을 포화시켜 열역학적 활성도를 동일하게 만들어준 후 동시투여군과 전처리군의 피부투과속도를 비교하였다. 또한 용매로 전처리하지 않은 상태에서 케토프로펜으로 포화된 인산완충용액도 대조군으로 포함하여 비교하였다. 이상의 실험결과를 Figure 2로 나타냈다. 앞에서 포화되지 않은 용액을 사용했던 것과는 달리 oleic acid와 IPM으로 처리한 전처리군이 동시투여군에 비해 초반에는 더 높은 투과속도를 나타냈으나 시간이 지남에 따라 점점 더 낮은 투과속도를 나타냈다. 초반에 전처리군의 투과속도가 더 높은 이유는 약물이 피부에 도포될 때 용매로 전처리하지 않은 경우에 비해 피부구조가 이미 약물이 투과하기에 용이하게 되어 있어서 약물이 더 빨리 투과되기 때문으로 생각된다.

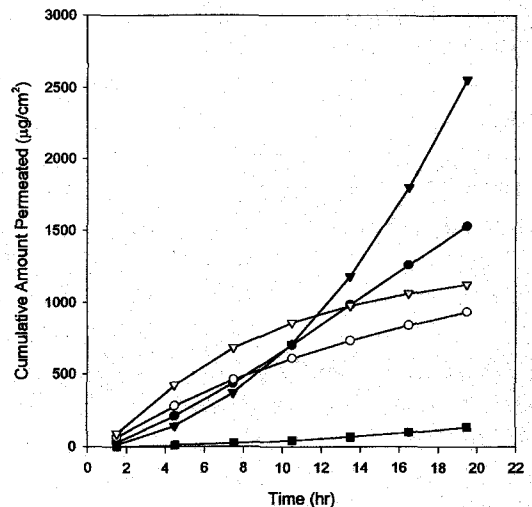


Figure 2—Effect of oleic acid and isopropyl myristate on the permeation of ketoprofen across hairless mouse skin after pretreatment using saturated solution. Each point represents average of three measurements. Key: ● and ○: isopropyl myristate, ▼ and ▽: oleic acid, ■: phosphate solution. Closed symbols: coadministration. Open symbols: pretreatment

12시간 이후에는 전처리군의 경우 투과속도가 지속적으로 감소되는 것을 볼 수 있는데 이는 약물의 용출속도가 투과속도 보다 느리기 때문이 아닌가 사려된다. 동시투여군의 경우는 지속적으로 피부투과속도가 증가되어 10-12 시간 이후에는 전처리군 보다 높은 투과도를 나타내는 것을 볼 수 있다. 이는 피부와 용매가 지속적으로 접촉하기 때문에 피부구조를 지속적으로 변화시키고 있다고 볼 수도 있으며 앞에서 언급한 carrier mechanism에 의한 것으로 볼 수도 있다. 또한 인산완충용액을 용매로 전처리하지 않고 피부에 적용시킨 결과는 용매로 전처리한 후 동일한 용액을 도포한 경우에 비해 현저히 낮은 피부투과속도를 나타냈다. 이는 용매의 피부투과도 증진 효과를 단적으로 나타내 주는 결과라고 볼 수 있다.

결 론

용매들을 이용해 피부투과속도의 향상시키기 위해서는 용매가 피부에 미치는 영향뿐만 아니라 용매 내에서의 약물의 열역학적활성도까지 고려해야 함을 알 수 있었다. 케토프로펜을 모델 약물로 한 피부흡수 촉진의 기전은 oleic acid와 IPM의 경우 피부구조에 변화를 줌과 동시에 용매가 피부를 투과하는 과정에서 용해된 약물이 함께 투과되는 carrier mechanism도 관련될 수 있음을 시사해주고 있다.

감사의 말씀

이 논문은 1996년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) S. Gao and J. Singh, Mechanism of transdermal transport of 5-fluorouracil by terpenes: carvone, 1,8-cineole and thymol, *Int. J. Pharm.*, **154**, 67-77 (1997).
- 2) G.D. Irion, M.D. Garrison and W. Abraham, Effect of PGML excipient mixture in a transdermal system on the *in vitro* transport of estradiol across skin, *Pharm. Res.*, **12**, 1618-1622 (1995).
- 3) B. Møllgaard and A. Hoelgaard, Vehicle effect in topical drug delivery I. influence of glycols and drug concentration on skin transport, *Acta. Pharm. Suec.*, **20**, 433-442 (1983).
- 4) H.-K. Choi and J.T. Angello, Mathematical analysis and optimization of flow-through diffusion cell system, *Pharm. Res.*, **11**, 595-599 (1994).
- 5) J.N. Twist and J.L. Zatz, The effect of solvents on solute penetration through fuzzy rat skin *in vitro*, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **40**, 231-242 (1990).
- 6) Y.J. Cho and H.K. Choi, Enhancement of percutaneous absorption of ketoprofen: effect of vehicles and adhesive matrix, *Int. J. Pharm.*, **169**, 95-104 (1998).