

Gum류의 연고제제와 흡수촉진제가 Riboflavin의 경피흡수에 미치는 영향

오세영 · 황성규 · 김판기*

명지대학교 화학공학과

*용인대학교 환경보건학과

Transdermal Permeation of Riboflavin in Ointment Bases Using Gums & Enhancers

Se Young Oh, Sung Kwy Hwang and Pan Gyi Kim*

Department of Chemical Engineering, MyongJi University

*Department of Environmental Health, YongIn University

ABSTRACT

We investigated characters of transdermal therapeutic system(TTS) and the skin permeability of that with applying drug delivery system(DDS). Natural gums were selected as material of TTS. The permeation of natural gums ointment containing drug in rat skin using diffusion cell model. Permeation properties of materials were investigated for water soluble drug such as riboflavin *in vitro*. We used glycerin, PEG 600 and oleic acid as enhancers. Since dermis has more hydration than the stratum corneum, skin permeation rate at steady state was highly influenced when glycerin was used in riboflavin. The permeation rate of content enhancer and drug was found to be faster than that of content riboflavin only. These results showed that skin permeation rate of drug across the composite was mainly dependent on the property of ointment base and drug. All the gum ointment tested showed good safety. Proper selection of the materials which resemble and enhance properties of the delivering drug was found to be important in controlling the skin permeation rate.

Keywords : Karaya Gum, Xanthan Gum, Permeation, Ointment Base, Enhancer

I. 서 론

의약품성분이 필요시기와 장소에 적절히 전달되도록 함으로서 과량 투여 및 부작용과 같은 여러 손실을 감소시키고 최상의 약효를 유지시킬 수 있는 약품 투여 방법 중 특히 약물방출조절 시스템(Drug Delivery System, 이하 DDS)에 대한 연구가 주도적으로 이루어지고 있다.¹⁻⁴⁾ DDS란 종전의 단점을 개선하여 최상의 약효를 획득하는 것을 말한다. DDS 응용 방법 중에서 현재 가장 각광 받는 분야가 피부를 통해 약물이 흡수되는 경피흡수 방식이다.^{5,6)} 종전에는 대개 피부 표면을 살균하거나 국소 부위에서의 작용을 목표로 약물을 피부에 도포하였다. 그러나 경피흡수의 경우 위장관 내 흡수시 부담감의 해소, 환자의 거부감 감소 및 경구 투여를 실시할 수 없는 경우에 사용 가능하고 간에서의 초회통과 효과(first-pass effect)를 피할 수 있으며 장시간 투여가 가능하고 부작용이 나타나면 즉시 투여를 중

지할 수 있는 장점 때문에 전신 치료의 목적으로 피부에 약물을 적용하게 되었다. 경피투과제제(transdermal therapeutic system, 이하 TTS)의 이러한 장점 때문에 많은 개발이 이루어지고 있으나 많은 투여량을 필요로 하는 약물, 피부에 자극이 있는 경우, 약물이 피부 내에서 대사되는 경우 및 약물의 크기가 커서 분자 확산이 불가능한 경우에는 경피투과제제로서 이용이 불가능하다는 단점도 있다. TTS를 이용한 개발 대상 약물은 고혈압 치료제, 항히스타민제, 항염증제, 진통제, 관절염 치료제, 호르몬제 및 피임약 등이 속하는데 이러한 부분과 관련하여 최근 국내에서도 합성 고분자 물질을 이용한 이상적인 경피투과제제의 개발에 관한 연구가 각 분야에서 활발히 진행되고 있으며 경피흡수 촉진방법 중에서 특히 투과 촉진제에 대한 연구가 많이 보고되고 있다.^{7,8)} 피부투과의 가장 큰 장벽인 각질층에 영향을 주어 약물의 투과도를 증진시키고 지연시간(lag time)을 단축시킬 목적으로 투과 촉진제를 사용하며 일

반적으로 sulfoxide, pyrrolidone, 지방산, azone, 계면활성제, urea, alcohol 및 glycol 유도체 등이 사용되고 있다.⁹⁾ 경피투과제제는 피부에 직접 적용시키기 때문에 피부에 적용되었을 때 피부자극 및 홍반, 부종 등의 부작용을 일으키지 않는 재료를 선택하는 것이 중요하다. 부작용을 일으키지 않는 재료로 현재 많이 사용되고 있는 것이 천연 고분자이다. 본 연구에서는 DDS를 응용한 경피투과제제를 제조하고자 약물 방출조절 기제로서 수용성 천연 고분자인 gum류를 사용하여 수용성 비타민인 riboflavin과 혼합하여 기제의 종류, 약물의 함량 및 투과 촉진제의 종류에 따라서 경피투과제제를 제조하고 실험 동물로 선정된 랫드(rat)를 이용하여 *in vitro*에서 경피흡수 실험을 진행시켜 gum류의 연고기제로서의 가능성 및 3종의 투과 촉진제에 대한 영향 등을 검토하였다.

II. 실험 방법

1. 시약 및 기기

경피투과제제의 기제로 사용된 천연 gum류로서 *Sterculia* 나무로부터 추출된 karaya gum(Sigma Co., USA), *Xanthomonas campestris*에 의하여 생합성한 xanthan gum(Sigma Co., USA)을 사용하였으며 riboflavin [Vitamin B2](Aldrich Co., USA)와 투과촉진제로는 glycerin, PEG[polyethylene glycol, n : 600], oleic acid (Aldrich Co., USA)와 혼합하여 실험에 사용하였다. 경피투과제제를 제조하는데 사용한 용매로서는 MILLIPORE사의 Milli-Q water system을 사용하여 처리한 탈이온수를 자외선으로 24시간 멸균 처리하여 사용하였다. *In vitro* 실험에서의 대체 혈장용액인 인산염 완충용액으로서 phosphate buffered saline[이하 PBS] (Sigma Co., USA)을 이용하여 pH 7.4로 제조하였으며 기타 실험에 사용한 에탄올, 초산 등의 국산용매를 재증류하여 사용하였다. 천연 gum류 기제의 계면동전 현상인 제타전위를 측정하기 위하여 Malvern사의 Zetamaster Electro-phoresis Analyser를 사용하였는데 방법은 25°C에서 각각의 시료를 위산, 정상 피부 및 혈장의 pH가 고정에서 각각의 표준 완충 용액(pH 1.5, 5.5, 7.4)에 충분히 분산시킨 후 분산액을 전류의 흐름이 발생하는 chamber 내의 질량 변화에 의해서 제타-전위를 측정하는 질량 이동법^{10,11)}으로 측정하였다. *In vitro*에서의 경피투과제제의 랫드의 피부를 이용한 경피투과 실험에서는 UV spectrophotometer(Simadzu Co., Japan)를 사용하여 분광 광도법으로 200~500 nm에서 각 물질의 최대 흡수 파장에서 농도를 측정하였다.

Table 1. The composition of transdermal applying formulations (unit : mg)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Karaya gum	270	240	-	-	-	-	-	-	-
Xanthan gum	-	-	270	240	270	270	270	240	240
Riboflavin	30	60	30	60	30	30	30	60	60
Glycerin	-	-	-	-	40	-	-	80	-
PEG 600	-	-	-	-	-	40	-	-	80
Oleic acid	-	-	-	-	-	-	40	-	-
Water	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

2. 경피투과제제의 제조

경피투과제제의 제조시 용매에 gum류의 양을 일정하게 취하여 각각 용해시켰다. 각각 수용액상에서 점성을 나타내므로 기계식 교반기를 사용하여 일정시간 동안 균일하게 분산 용해되도록 하였다. 이때 기포생성을 방지하기 위하여 일시적으로 초음파반응을 시켜서 기포생성을 억제하였다. 이와 같이 얻은 겔형의 천연 gum 기체에 약물인 riboflavin과 투과 촉진제를 일정량 첨가하고 다시 기계식 교반기를 사용하여 제제와 약물이 균일하게 섞이도록 교반하였으며 제조한 경피투과제제는 밀봉하여 사용하였다. 제조한 경피투과제제 실험 조건을 Table 1에 나타내었다.

3. 실험동물 및 처치

(주)대한실험동물센터에서 4주령된 SPF 수컷 SD계 랫드를 분양 받아서 일주일간 적응 순화시킨 후 *in vitro*에서의 경피흡수 실험을 위해 막으로 사용할 랫드의 피부를 적출하였다. 랫드는 클로로폼을 사용하여 마취하였고, 등 부위의 피부에 가로, 세로 10.0 cm 가량 부위의 털을 제모하고 70% 에틸알코올로 소독한 후 멸균된 수술용 칼로 표피를 절개하였다. 가로, 세로 각각 5.0 cm로 절개하여 피부를 적출하고, 적출한 피부를 실험장치 중앙에 고정시킨 후 실험을 진행하였다.

4. *In vitro*에서의 투과

동일 조건으로 제조된 경피흡수제제를 *in vitro*에서의 피부투과 실험을 위해 Fig. 1의 수평막 셀을 사용하여 투과실험을 진행하였다. 적출한 랫드의 피부가 고정된 투과셀 상층에 제조한 연고기제를 50 ml 적가하고 110 rpm의 회전속도와 37±0.5°C로 유지된 항온조에서 실험하였으며 타석교반기를 사용하여 막 주위의 농도 분극이나 boundary resistance를 제거하였다. 투과정도는 UV 분광광도법으로 측정하였는데 시료 3.0 ml를 채취한 후 바로 동량의 PBS를 넣어 sink condition을 유

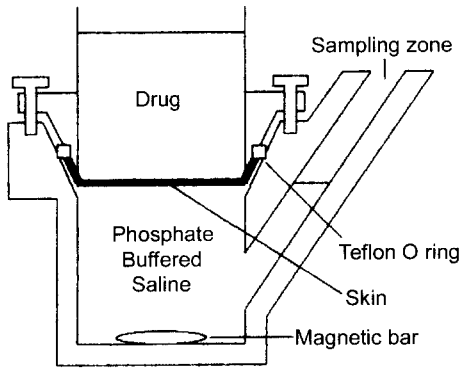


Fig. 1. Schematic diagram of transdermal absorption apparatus of drug release *in vitro*.

지하였다. 채취된 시료는 millipore filter(pore size : 0.2 μm)로 여과한 후 약물의 최대 흡수파장(λ_{max})인 475 nm에서 측정하였으며 각 실험은 3회 실시하여 그 평균치를 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 연고기제의 안정성 측정

경피흡수 실험의 제제로 사용한 천연 gum류의 제타 전위(zeta-potential)를 질량 이동법에 의하여 측정하여 Fig. 2와 Table 2에 나타내었다. 제타전위란 분산막과 밀착층 사이 발생하는 전위를 나타내며 분산된 입자의 전기 화학적인 안정성을 나타낸다. 특히 제타전위값이 0가 될 때의 pH를 등전점이라 한다. 이 등전점에서는 분산 용해 되어있는 하전 입자들이 응결되거나 불안정 하며 용해도 곡선을 저하시키는 용매의 첨가에 의하여 침전이 나타나기 때문이다. 본 실험에서 제타전위를 측정 한 이유는 연고 형태의 분산막과 밀착층이 되는 피부 사이에서의 pH 변화에 따른 기제의 안정성을 관찰

Table 2. The values of zeta potential for natural polymer at various pH (Unit : mV)

Natural gum	pH	O.B*	O.B+riboflavin
Karaya gum	1.5	-13.1	-
	5.5	-23.2	-23.4
Xanthan gum	7.4	-70	-
	1.5	-34.3	-
Xanthan gum	5.5	-28.6	-35.8
	7.4	-41.6	-

*O.B: Ointment Base.

하려고 했기 때문이다. 일반적으로 피부 각층에서 표피의 경우 pH 4.2~6.5, 수분 함유량 10~25%이며, 진피의 경우 pH 7.2~7.3, 수분 함유량 70%로 알려져 있으며 생체에서 건강한 표피부의 pH는 5.5 정도로서 약산성인 것으로 알려져 있다.¹²⁾ 결과적으로 약물 함유 천연 gum류들은 응결, 침전이 나타나는 등전점으로부터 제타전위 값의 차이가 나타나 있으므로 피부와 접촉시 연고제제의 석출 가능성이 없다는 것을 확인할 수 있었다.

2. 약물의 경피투과 측정결과

피부를 통한 약물의 흡수는 약물이 기체와 생체내부 사이의 농도차에 의한 현상이다. 각질층실질을 투과하는 전체 확산과정은 기체 중에서 확산, 각질층으로 분배와 확산, 각질층 이하의 층으로 분배, 표피·진피 중에서 확산 그리고 진피 중에서 혈액으로의 이행으로 나눌 수 있다.¹³⁾ 확산현상은 약물의 농도 구배와 이동속도의 관계를 나타내는 Fick의 제 1식[(1)]으로 표현된다.

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

약물의 피부투과는 대부분 정상상태에서의 투과속도

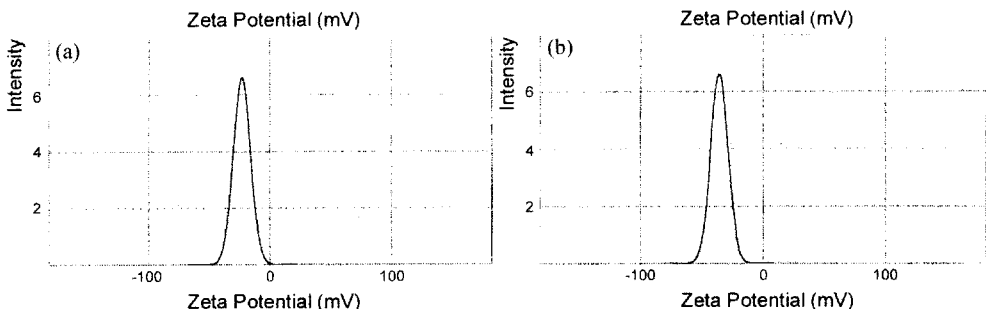


Fig. 2. Zeta-potential plots for karaya gum(a) and xanthan gum(b).

로 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 측으로의 누적 약물투과량 Q는 다음의 (2)식으로 나타내진다.

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

이 식으로부터 비선형 최소자승법을 이용하여 누적약물 투과량-시간곡선을 해석하여 K와 D를 구할 수 있다.¹⁴⁾ 정상상태의 기울기가 투과속도 J이며 이직선을 시간축에 외삽했을 때의 교점이 lag-time LT에 해당하므로 J와 LT는 그래프로부터 구할 수도 있다. 식(2)에서 $t \rightarrow \infty$ (정상상태)가 되면

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

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

$$J = AKC_v D/L = A(K_p)C_v \quad (4)$$

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

Table 3. Permeation parameters of riboflavin through excised rat skin

Formulation	Permeation parameters			
	J_s ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$) ^a	T_L (hr) ^b	D ($\text{cm}^2/\text{hr} \times 10^4$) ^c	
Karaya gum	A(Riboflavin 30 mg)	0.099	3.39	5.95
	B(Riboflavin 60 mg)	0.114	2.82	7.15
Xanthan gum	C(Riboflavin 30 mg)	0.128	4.91	4.11
	D(Riboflavin 60 mg)	0.127	2.58	7.82
Riboflavin 60mg	E(Glycerin 40 mg)	0.212	4.28	4.71
	F(Glycerin 80 mg)	0.226	3.61	5.59
	G(PEG 600 40 mg)	0.188	4.99	4.04
	H(PEG 600 80 mg)	0.203	4.67	4.32
	I(Oleic acid 40 mg)	0.176	5.35	3.77

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

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

따라서 피부 barrier의 두께 L을 안다면 lag-time으로부터 D를 구하여 D와 K_p 로부터 K를 구할 수 있다.¹⁴⁾ 이러한 투과속도 계산법을 이용하여 기제와 약물의 조건변화에 따른 랫드의 피부에서의 경피흡수 속도를 연구하여 *in vitro*상태인 랫드 피부에서의 수용성 약물의 함량, 투과촉진제 등의 변화에 따른 투과 정도를 관찰하여 Table 3과 Fig. 3~4에 나타내었다.

수용성 약물인 riboflavin을 사용하여 *in vitro*에서 진행한 실험에서의 전체적인 투과 양상을 보면 5시간 전

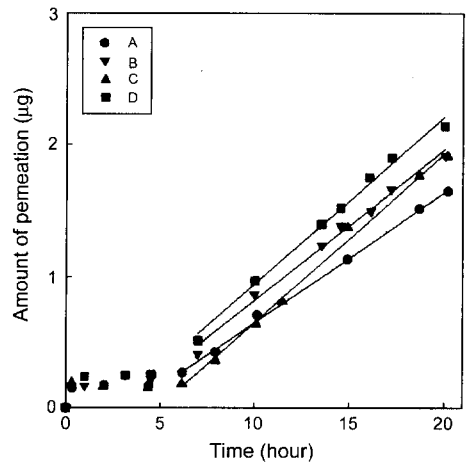


Fig. 3. Amount of 10 wt% and 20 wt% drug release versus time for gums ointment.

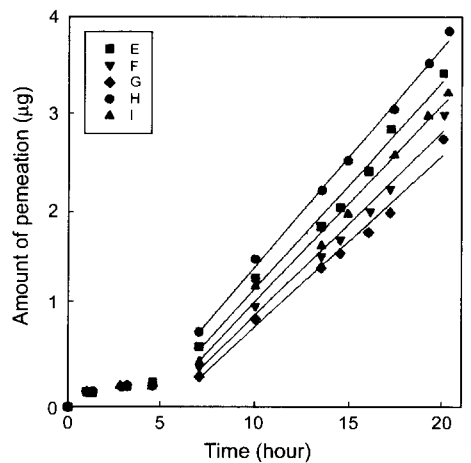


Fig. 4. Amount of 20 wt% riboflavin release versus time for gums using enhancers.

후에서 정상상태에 이르며, 약물의 함량별 결과인 Fig. 3으로부터 구한 각 특성치를 비교하면 karaya보다 xanthan이 투과속도가 빠름을 확인할 수 있었다.

피부 표면에서는 언제나 $0.2 \sim 0.6 \text{ mg/cm}^2/\text{hr}$ 의 속도로 수분이 증발하고 있으며 피부의 흡수량이 정상보다 많아지는 현상을 수화라고 한다.¹³⁾ 패취와 같은 밀봉요법 또는 연고기제 등으로 수분 증발량을 억제하면 피부가 수화되어 그만큼의 lag time을 갖게 되며 피부내의 유동성을 증가시켜 약물이 용이하게 투과될 것으로 생각한다. 다음으로 약물의 함량을 고정하고 흡수촉진제로 글리세린, PEG 600 및 올레산을 첨가한 투과 실험을 진행해서 다음과 같은 결과를 얻었다.

Fig. 4에서와 같이 흡수촉진제가 포함된 연고제제의 경우에서 글리세린의 lag time과 투과속도는 3.61 hr 과 $0.226 \mu\text{g/cm}^2/\text{h}$, PEG 600의 lag time과 투과속도는 4.67 hr 과 $0.203 \mu\text{g/cm}^2/\text{h}$ 그리고 올레산의 lag time과 투과속도는 5.35 hr 과 $0.176 \mu\text{g/cm}^2/\text{h}$ 로 계산되었다.

결과에서와 같이 흡수촉진제를 첨가했을 때 lag time과 투과속도가 빠르게 나타났으며 특히 흡수촉진제로 글리세린을 사용했을 때 가장 빠른 흡수속도를 나타냈고 PEG 600, 올레산의 순으로 흡수속도의 증가를 나타냈다. 올레산이 lag time이 길었음에도 글리세린보다 흡수속도가 가장 낮았는데 이는 글리세린보다 친수성기가 적은 올레산이 각질의 keratin과 약하게 작용하기 때문에 수화에 의한 lag time은 증가시키나 수용성인 약물의 흡수를 증가시키지 못하기 때문이라 생각된다. 결국 약물의 흡수 과정에서 흡수촉진제는 약물의 피부에 대한 윤�활제로 작용할 것이며 약물이 용해되어 있는 고분자 기체를 유연하게 하여 약물의 기체 통과를 용이하게 하는 것으로 생각된다. 그러므로 흡수촉진제의 종류와 양을 변화시킴으로써 약물의 방출량을 조절할 수 있을 것이라 생각된다. 그러나 흡수촉진제의 효과 발현이 기체의 성질에 영향을 미칠 수 있는 것이다. 예를 들어 기체와 흡수촉진제간의 공용매 효과에 의해 기체중의 약물 용해도가 변하면 길보기에 같은 농도라도 약물의 기체 중 활동도가 변할 수 있으므로 흡수량에 영향을 미치게 되며 또한 기체의 차이로 촉진제 자체의 피부 이행에 영향을 받고 흡수 촉진 효과도 변할 수 있는 것이다. 그러나 흡수 촉진제의 과다 사용은 피부 자체의 안전성에 나쁜 영향^{15,16)}을 줄 수 있으므로 흡수촉진제의 양을 적절하게 조절해야만 한다.

IV. 결 론

천연gum류를 연고제제로 사용하여 수용성 비타민인

riboflavin을 첨가하고 *in vitro*에서 랫드 피부에 대하여 약물의 함량과 흡수촉진제 등의 변화에 따른 투과 정도를 관찰하였다. 전체적인 투과 양상을 보면 5시간 전후에서 정상상태에 이르며, 흡수속도 계산 결과에서 보면 약물의 함량이 많은 경우에 투과속도가 상대적으로 빠르게 나타났으며 karaya보다 xanthan의 흡수속도가 빠름을 확인할 수 있었다. 밀봉요법 또는 연고기제 등으로 수분 증발량을 억제하면 피부가 수화되어 그만큼의 lag time을 갖게 되며 피부내의 유동성을 증가시켜 약물이 용이하게 흡수될 것으로 생각한다. 흡수촉진제에 따른 *in vitro*실험 결과 수용성 약물에서는 글리세린 > PEG > 올레산의 순서로 글리세린이 가장 빠른 흡수속도를 보였으며, 이러한 결과로부터 약물에 따라 흡수촉진제에 따른 영향이 있음을 확인할 수 있었다. 약물의 경피 흡수과정에서 흡수속도는 흡수촉진제의 친수성과 친유성기의 인자에 영향을 받으며, 흡수촉진제는 약물의 피부에 대한 윤�활제로 작용하여 약물이 용해되어 있는 고분자 기체를 유연하게 하고 약물의 기체 통과를 용이하게 하는 것으로 생각된다. 그러므로 흡수촉진제의 양을 변화시킴으로써 약물의 방출량을 조절할 수 있을 것이라 생각된다.

참고문헌

- 1) Tune, W.: Drug Delivery Devices, Fundamentals and Applications, Praveen, Tyle, Ed., Dekker, New York, 32, 213-234, 1988.
- 2) Rohde, E. and Buchwald R.: Drug Delivery Devices, Fundamentals and Applications, Praveen, Tyle, Ed., Dekker, New York, 32, 236-260, 1988.
- 3) Kim J. H. and Lee, Y. M.: Controlled Drug Delivery System, *J. Korean Ind. & Eng. Chem.*, 2(2), 87-96, 1991.
- 4) Wilkins E.: biomaterials implanted closed loop insulin delivery system, *Biosensors and Bioelectronics*, 5, 167-183, 1990.
- 5) Rohr, U. D., Altenburger, R. and Kissel, T.: Pharmacokinetics of the Transdermal Reservoir Membrane System Delivering β -Estradiol, *In vitro/In vivo*-correlation, *Pharmaceu. Res.*, 15(6), 877-882, 1998.
- 6) Lipp, R., Laurent, H., Gunther, C., Riedl, J., Esperling, P. and Tauber, U.: Prodrug of Gestodene for matrix-type Transdermal Drug Delivery System, *Pharmaceu. Res.*, 15(9), 1419-1424, 1998.
- 7) Cooper, E. R.: Increased Skin Permeability for Lipophilic Molecules, *J. Pharm. Sci.*, 73, 1153-1156, 1982.
- 8) Yamane, M. A., Williams, A. C. and Barry, B. W.: Effect of Terpenes and Oleic Acid as Skin Penetration Enhancers towards 5-Fluorouracil as Assessed with

- Time, Permeation partitioning and Differential Scanning Calorimetry, *Int. J. Pharm.*, **116**, 237-251, 1995.
- 9) Sato, K., Sugibayashi, K. and Morimoto, Y.: Effect and Mode of Action of Aliphatic Esters on the in vitro Skin Permeation of Nicorandil, *Int. J. Pharm.*, **43**, 31-40, 1988.
 - 10) Williams, R. A.: Colloid and Surface Engineering Application in the Process Industries, 14, Butterworth-Heinemann Ltd., London, 188-256, 1992.
 - 11) Hunter, R. J.: Zeta Potential in Colloid Science, Academic Press, New York, 1981.
 - 12) Bickers, D. R.: The Skin as a Site of Drug and Chemical Metabolism, In Drilln V. A(Eds.), Current Concept in Cutaneous Toxicity, New York, Academic Press, 95-102, 1980.
 - 13) Hitoshi, S., 심창구, 정연복 및 강영숙: 경피흡수 실험법, 약물송달학, 한림원, 서울, 94-123, 1993.
 - 14) Okamoto, H., Hashida, M. and Sezaki, H.: Analysis of Drug Penetration through Skin Considering Doner Concentration Decrease, *J. Pharm. Sci.*, **77**, 418-424, 1988.
 - 15) Okamoto, H., Hashida, M and Sezaki, H.: Structure-Activity Relationship of 1-Alkenylazacycloalkanone Derivative as Percutaneous Enhancer, *J. Pharm. Sci.*, **77**, 418-429, 1988.
 - 16) Uchida, T., Kitagawa, K. and Yagi, Y.: Effect of Hydrophilic and Lipophilic Vehicles on Skin Permeation of Tegafur with and without Permeation Enhancers", *Biol. Pharm. Bull.*, **16**, 1264-1282, 1993.