

케토프로펜 팩제제에서 경피흡수에 미치는 투과촉진제의 영향

조수진 · 유도라 · 김길수[†]

이화여자대학교 약학대학
(2001년 5월 11일 접수)

The Effects of Enhancers on Transdermal Absorption of Ketoprofen Packs

Su Jin Cho, Do Ra You and Kil Soo Kim[†]

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea
(Received May 11, 2001)

ABSTRACTS—In order to reduce the systemic side effects and gastrointestinal irritation after its oral administration, ketoprofen was formulated as water-soluble packs. The effects of fatty acids and fatty alcohols on the penetration of ketoprofen through excised rat skins were evaluated. The role of stratum corneum as a protective barrier was also investigated. Fatty acids and fatty alcohols were generally effective in promoting ketoprofen penetration. The flux of ketoprofen through rat skin was maximized when oleic acid or lauryl alcohol was used as an enhancer. As the concentration of fatty acids and fatty alcohols varied from 0% to 10%, the amounts of ketoprofen penetrated were in direct proportion to that of fatty acids but those had no relationship with that of fatty alcohols. The penetration of ketoprofen through stripped skin was enhanced compared to normal skin irrespective of enhancer type, which indicated that the action site of enhancers would be stratum corneum.

Keywords—Ketoprofen, Water-soluble pack, Enhancers, Permeability

케토프로펜은 류마티스성 관절염 및 그 관련질환에 널리 사용되는 비스테로이드성 소염진통제 중 하나이다. 그러나 그의 경구 적용은 전신 부작용 및 위장관 자극현상이 나타나 위궤양을 유발하기도 하며 약 2시간 정도의 짧은 반감기를 지니는 등 여러 가지 단점이 있다. 이를 극복하기 위해 겔제, 크림제, 연고제와 같은 경피흡수제제가 개발되고 있다.

본 연구는 케토프로펜을 필름 형성이 용이한 폴리비닐알코올(PVA)을 주기제로 하는 수용성 팩제제로 설계하였다. 케토프로펜은 높은 피부 투과력을 지니고 다른 비스테로이드성소염진통제에 비해 비교적 약효가 강력하며 상대적으로 높은 수용성을 지니고 있어 용이하게 수용성 제제로 설계할 수 있는 장점을 가지고 있다.^{1,2} 본 연구에서는 케토프로펜을 필름 형성의 특성을 가진 폴리비닐알코올을 주기제로하는 수용성 팩제제로 설계하였으며 이때 피부투과 촉진제로 널리 사용하는 지방산 및 지방알코올류의 투과촉진 효과를 검토하였다. 지방산 및 지방알코올류 중 투과 촉진효과가 높은 것으로 보고된 탄소수 12의 라우릴산, 라우릴 알코올과 이

중결합 하나를 지니는 탄소수 18의 불포화 지방사슬인 올레인산, 올레일 알코올을 투과촉진제로 선택하여 케토프로펜의 흡수에 미치는 영향을 살펴보고 부가적으로 각질층 박리에 따른 투여 방어막으로서 각질층의 역할 등을 절제한 랫트 피부를 사용하여 평가하였다.

실험방법

시약

폴리비닐 알코올(Junsei Chemical Co.), 폴리비닐 피롤리돈(Junsei Chemical Co.), 폴리에틸렌 글리콜 4000(Junsei Chemical Co.), 플록사머 407(Pluronic F127, BASF Aktiengesellschaft, Germany), 트리에탄올아민(Duksan Pure Chemicals Co.), 에탄올(Duksan Pure Chemicals Co.), 올레인산(Showa Chemicals Inc.), 라우릴산(Sigma Chemicals Co.), 올레일 알코올(Yakuri Pure Chemicals Co.), 라우릴 알코올(Junsei Chemical Co.), 이수소인산칼륨(Showa Chemicals Inc.), 수산화나트륨(Hayashi Pure Chemicals Inc.), 케토프로펜(K.P.VI, 광동제약 제공) 등을 사용하였으며, 기타 시약류는 시판되는 특급 또는 일급품을 사용하였다.

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : (02)3277-3026, E-mail : kskim@mm.ewha.ac.kr

기기

실험에 사용된 주된 기기로는 Keshary-Chien diffusion cell assembly(자체 주문제작), 항원진탕 수조(Chang shin Co.), 냉동고(REVCO), 자외/가시선 분광광도계(Beckman Instruments, Ins. DU-68), 균질기(CAT X520), 자력 교반기(LAB-Line Instrument), 순환식 정밀 항온 수조(EYELA), 전기제모기(Thrive, Model 900) 등이다.

케토프로펜 팩제제의 제조

적당량의 증류수에 PVA, 폴리비닐피롤리돈(PVP), 폴리에틸렌글리콜 4000, 폴록사머 407을 균질기를 사용하여 용해시켰다. 여기에 농도를 달리한 다양한 투과촉진제, 트리에탄올아민, 케토프로펜을 녹인 에탄올용액을 첨가하고 설계된 처방대로 최종 부피가 될 때까지 증류수를 채운 후 균질기로 일정한 회전 속도를 유지하여 5-10분간 섞었다. 약물을 완전히 용해시키기 위하여 실온에서 하룻밤 배양시켰다. (Scheme 1).

실험동물

Full-thickness skin - 체중 200-250 g의 Sprague-Dawley 계열 웅성 랫트를 사용하였다. 랫트를 에테르로 마취시키고 복부의 털을 전기제모기로 피부에 상처가 나지 않도록 조심스럽게 제거하고 일회용 면도기를 사용하여 피부가 손상되지 않도록 조심하면서 제모하고 확대경으로 관찰하여 손상되지

않은 피부만 실험에 사용하였다. 복부 피부를 사각형으로 절제하여 붙어 있는 지방과 다른 내장 파편들을 제거하였다. 피부는 즉시 사용하거나 알루미늄 호일로 싸서 -70°C로 냉동고에 냉동 보관하였다. 피부의 냉동 저장이 약물 투과에는 크게 영향을 미치지 않을 것으로 예상되는데 466일까지 냉동 저장하였지만 피부 투과시험 결과 즉각 사용한 피부와 유의적인 차이를 보이지 않았던 보고³⁾가 이를 입증한다. 투과시험 직전 버니어 캘리퍼스를 사용하여 마이크로미터(μm) 단위로 피부 두께를 측정하였다.

Stripped skin - 각질층의 박리는 셀로판테이프를 이용하였다. Tape stripping을 20-30회 정도 하였는데 각질층이 완전히 박리되어 살아있는 표피가 나타나서 피부 표면이 빛나 보이는 때를 stripping 종료시점으로 잡았다.

케토프로펜의 피부 투과시험

피부 투과시험을 위해 개량형 Franz cell인 Keshary-Chien diffusion cell을 사용하였다. 25 ml 용량의 receptor compartment에 pH 7.4 인산염 완충액을 채우고 절제한 랫트 피부를 각질층이 donor compartment 쪽으로, dermis가 아래로 오게 하여 donor와 receptor compartment 사이에 끼운 후 고정하였다. 약물의 유효 투과 면적은 1.327 cm²이었다. 약물을 포함한 다양한 조성의 팩제 1.0 g을 donor compartment에 취하고 이 때, 제제 한방울이 랫트 피부에 닿을 때를 영점으로 정하였다. 피부 투과시험동안 용출 용매의 온도를 37±0.1°C로 일정하게 유지시키고 일정 속도로 혼화하였다. 총 30시간까지 미리 정해진 시간에 용출 용매 0.2 ml를 검체 채취관을 통해 동일 지역에서 취하고 동량의 인산염 완충액을 즉각 보충하였다. 용출 용매내의 케토프로펜은 사용하여 254 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 이때 검량선은 y=0.0603x+0.0117이며 상관계수 r은 0.9999이다.

데이터 처리

Permeability coefficient - P_m

$$J = \frac{dQ/A}{dt} = \frac{C_0 \cdot D \cdot K}{L} = \frac{C_0}{L} \cdot P_m$$

$$\therefore D \cdot K = P_m(\text{cm/sec})$$

J = flux

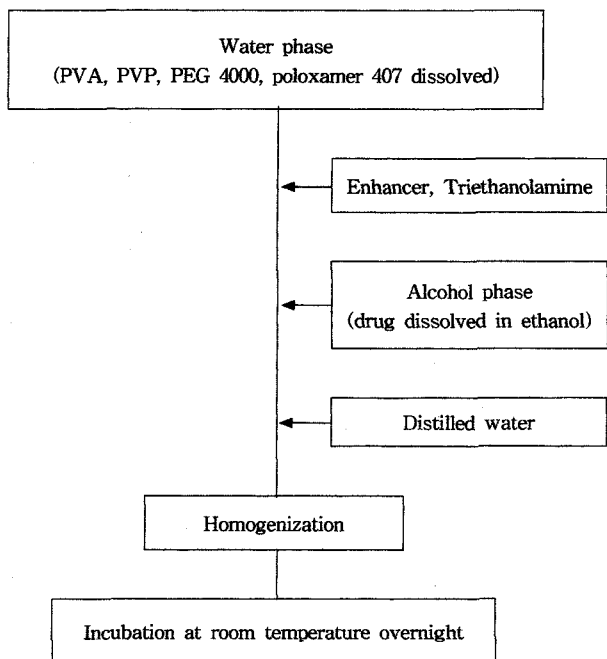
Q = receptor phase내 약물량

A = 유효투과면적

L = 피부 두께

C₀ = 제제의 약물 농도

D = 확산계수(diffusion coefficient)



Scheme 1-Preparation of ketoprofen packs.

K = 분배계수(partition coefficient)

시간을 X축으로, 단위 면적당 투과량을 Y축으로 한 그래프를 그려 그의 기울기로부터 permeability coefficient(P_m)을 구하였다.

Enhancement ratio, ER - 투과촉진제를 포함하지 않은 제제의 케토프로펜 flux를 1로 보았을 때 enhancement rate (ER)은 다음 식과 같이 구할 수 있다.

$$ER = \frac{\text{The ketoprofen flux with enhancer}}{\text{The ketoprofen flux without enhancer}}$$

결과 및 고찰

투과촉진제의 종류 및 농도의 영향

실험에 사용한 투과 촉진제는 올레인산, 라우릴산이며 지방 알코올류로는 올레일 알코올과 라우릴 알코올 등 4종류이며, 절제 랫트 피부를 통한 케토프로펜의 투과에 사용된 투과촉진제 모두 촉진효과를 나타내었다. 올레인산과 라우릴 알코올의 효과가 우수하였고 올레일 알코올의 효과가 가장 낮았다. 이것은 carbopol로 제조된 케토프로펜 패취제내 올레인산의 투과 촉진효과가 최대이고¹⁾ 올레인산이 올레일 알코올보다 효과적이라는 케토프로펜과 피록시캄을 모델 약물로 한 보고⁴⁾와 일치하였다.

투과촉진제들의 종류 및 각각의 농도에 대한 permeability coefficient(P_m)과 enhancement ratio(ER)을 계산하여 Table

Table I-Evaluation of Permeability Coefficient and Enhancement Ratio

Penetration Enhancer	Number (n)	Permeability Coefficient (P _m =K · D cm/sec)	Enhancement ratio (ER)
		mean value ± s.e.m. ^a	
No Enhancer (CONTROL)	8	(2.041 ± 0.250) × 10 ⁻⁴	1
Oleic acid 2%	4	(3.850 ± 0.079) × 10 ⁻⁴	1.76
Oleic acid 5%	5	(4.491 ± 0.250) × 10 ⁻⁴	2.08
Oleic acid 10%	6	(5.657 ± 0.136) × 10 ⁻⁴	2.72
Oleyl alcohol 2%	6	(2.898 ± 0.222) × 10 ⁻⁴	1.44
Oleyl alcohol 5%	5	(2.687 ± 0.123) × 10 ⁻⁴	1.27
Oleyl alcohol 10%	5	(3.077 ± 0.217) × 10 ⁻⁴	1.57
Lauric acid 2%	5	(2.840 ± 0.293) × 10 ⁻⁴	1.36
Lauric acid 5%	6	(3.502 ± 0.402) × 10 ⁻⁴	1.65
Lauric acid 10%	4	(4.812 ± 0.144) × 10 ⁻⁴	2.30
Lauryl alcohol 2%	6	(4.486 ± 0.211) × 10 ⁻⁴	2.18
Lauryl alcohol 5%	6	(5.684 ± 0.149) × 10 ⁻⁴	2.65
Lauryl alcohol 10%	7	(4.693 ± 0.171) × 10 ⁻⁴	2.43

a. standard error of the means

I에 정리하였다.

이러한 결과는 올레인산의 경우 올레인산내 C 18 사슬 가운데의 cis 이중결합이 꼬이게 되어 이것이 지질 구조내로 들어가면 구부러진 구조 때문에 각질층의 지질을 혼란시키고 지질 유동화와 지질 상 분리현상을 일으키며, 이 결과 약물 투과도가 증대되는 것으로 설명된다.⁵⁻⁸⁾ 현미경 관찰로 올레인산 10%를 가했을 때 30°C에서 'granular' appearance가 나타났고 온도를 증가시키면 지질의 혼란 정도가 심해졌으며 50% 올레인산 첨가로 fluid-like channels을 볼 수 있었다는 보고가 있다.⁹⁾ 또한 올레인산의 투과 촉진기전에 대한 IR 및 DSC 연구 결과 올레인산이 각질층의 지질영역에만 작용한다는 사실은 올레인산 혼입으로 지질의 상 전이 온도(65°, 75° 부근) 피크는 낮아지지만 단백질의 변성 온도(105° 근처) 피크에는 변화가 없었던 DSC 관찰로 입증되었다.^{5,7,10,11)}

라우릴산 및 라우릴 알코올의 투과 촉진효과는 각질층의 주요 구성 지방산 탄소사슬 C 16 보다 더 짧은 지방산 사슬 C 12의 피부 도입으로 올레인산과 유사하게 지질 혼란을 유도했기 때문이지만^{12,13)} 올레인산이 자체내 이중결합의 비틀림으로 인하여 라우릴산보다 좀 더 우수한 투과촉진제라고 알려져 있다.^{5,6)}

특히 양이온성 약물에 대한 올레인산과 라우릴산의 촉진 기여는 각질층의 유동화 뿐 아니라 이온대 형성으로 투과도가 현저히 증진됨이 보고되었는데 막표면에 존재하는 지방산이 이온화되어 결과적으로 형성된 carboxylate 음이온이 양이온성 투과약물과 이온대를 형성, 각질층으로의 분배를 증가시켜서 투과를 촉진시킨다는 것이다.^{6,14)}

올레인산(Figure 1)과 라우릴산(Figure 2) 등 지방산들의 경우에는 농도가 증가할수록 케토프로펜의 투과가 증가하였다. 하지만 올레일 알코올(Figure 3), 라우릴 알코올(Figure 4) 등 지방 알코올들은 농도의존성을 보이지 않았다. 이러한 지방산의 농도 의존성은 투과촉진 기구가 앞에서 언급한 각질층중 지질층의 혼란 유도에 기인하는 것으로 설명할 수 있다. 그러나 지방 알코올의 경우는 농도 의존성이 없으며 다시 말하면 투과촉진제에 의한 포화효과에 의한 것으로 생각되며 따라서 지질층의 혼란유도 이외에 전하간섭 또는 다른 분자간의 상호작용에 의한 것이 복합적으로 작용하는 것으로 생각되며 계속 연구해야 할 것으로 생각된다.

각질층의 영향

약물 투과에 대한 주 방어막으로서 인식되어 있는 각질층의 역할을 검토하기 위해 피부 투과 촉진효과가 가장 우수했던 올레인산 10%와 낮은 효과를 보였던 올레일 알코올

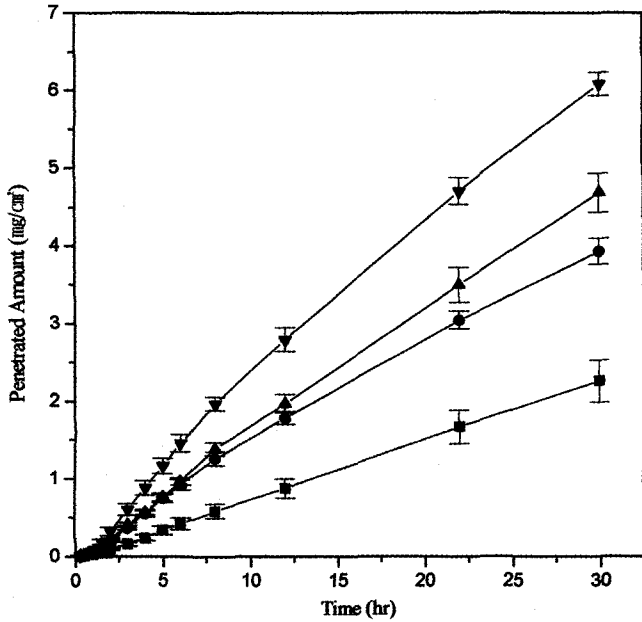


Figure 1—Effect of oleic acid concentration on ketoprofen penetration The error bars represent the S.E.M.(standard error of the means) Key : ■; control(n=8), ●; 2%(n=4), ▲; 5%(n=5), ▼; 10%(n=6).

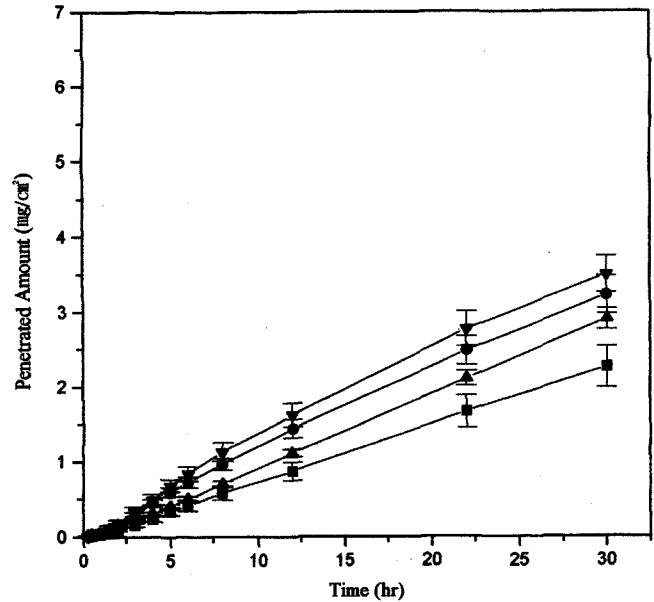


Figure 3—Effect of oleyl alcohol concentration on ketoprofen penetration The error bars represent the S.E.M.(standard error of the means) Key : ●; control(n=8), ●; 2%(n=6), ▲; 5%(n=5), ▼; 10%(n=5)

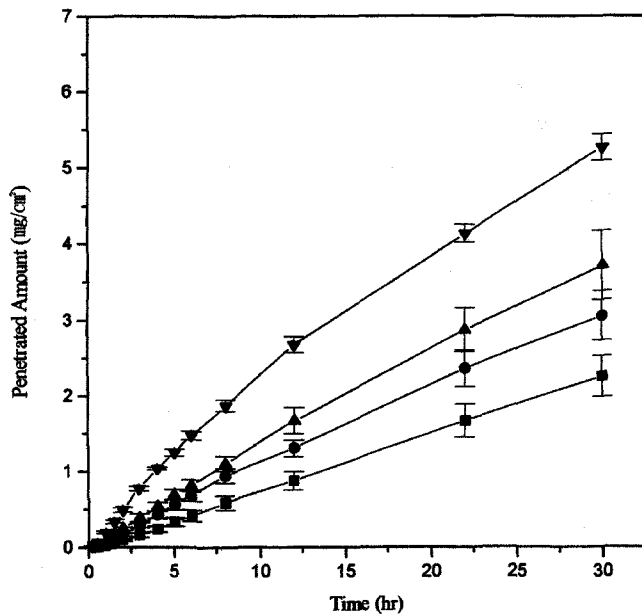


Figure 2—Effect of lauric acid concentration on ketoprofen penetration The error bars represent the S.E.M. (standard error of the means) Key : ■; control(n=8), ●; 2%(n=5), ▲; 5%(n=6), ▼; 10%(n=4).

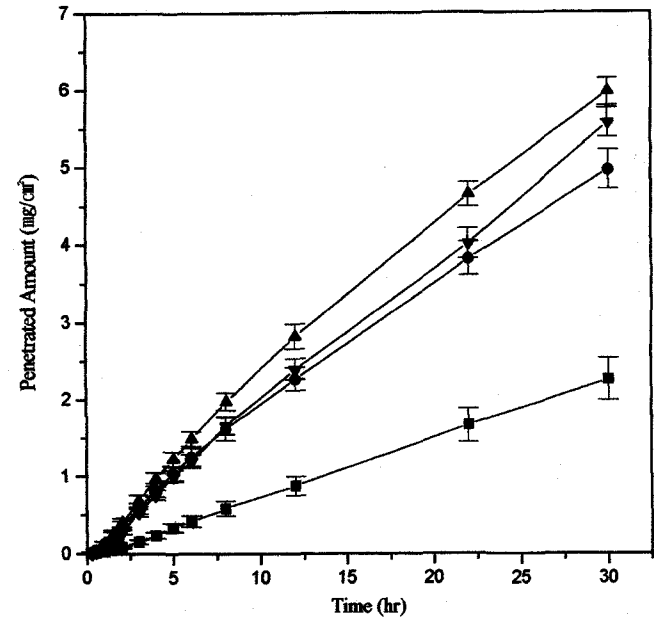


Figure 4—Effect of lauryl alcohol concentration on ketoprofen penetration The error bars represent the S.E.M.(standard error of the means) Key : ■; control(n=8), ●; 2%(n=6), ▲; 5%(n=6), ▼; 10%(n=7).

10%를 선택하여 각질층을 박리시킨 피부로 피부 투과시험을 하였다.

Figure 5, 6과 같이 각질층을 박리시킨 피부에서 투과촉진제의 종류와 관계없이 증가된 케토프로펜 투과를 보여 줌으

로써 투과촉진제의 작용 부위가 각질층임을 시사하였다. 각질층 박리 피부를 사용하여 올레인산 유무에 따른 투과도를 비교하였을 때 유의성 있는 차이를 보이지 않은 결과¹⁵⁾가 이를 뒷받침 하는데 상세한 작용기구는 아직 명확하지 않다.

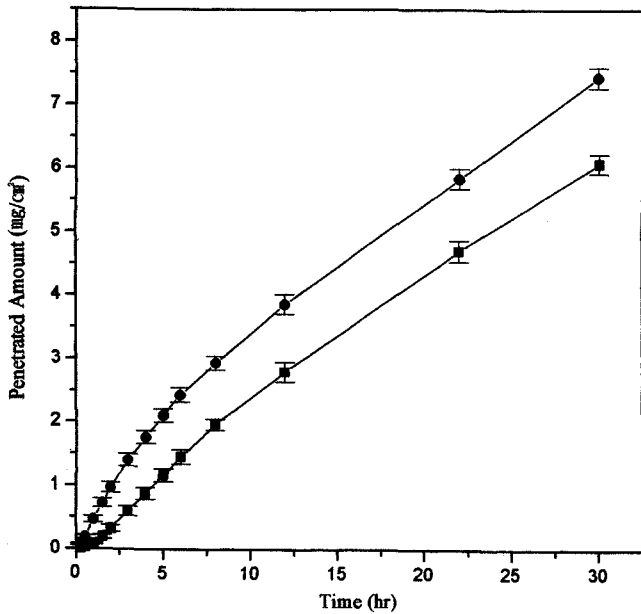


Figure 5—Ketoprofen penetration across different types of skin: Oleic acid The error bars represent the S.E.M.(standard error of the means) Key : ■; full-thickness skin(n=6), ●; stripped skin(n=8).

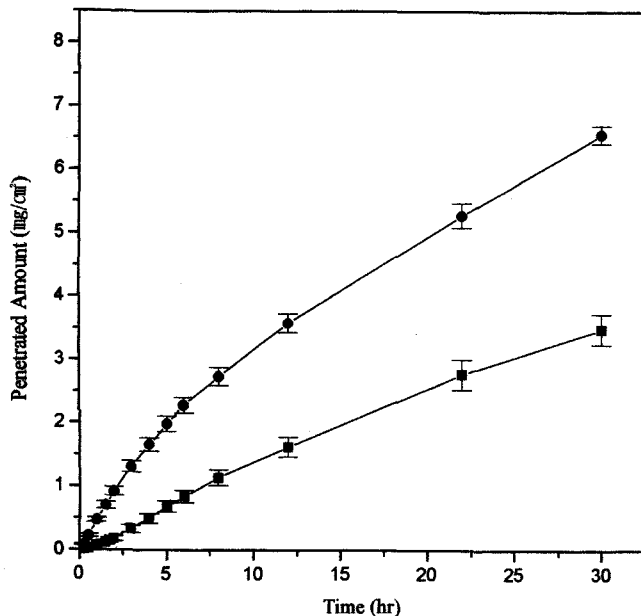


Figure 6—Ketoprofen penetration across different types of skin: Oleyl alcohol The error bars represent the S.E.M.(standard error of the means) Key : ■; full-thickness skin(n=5), ●; stripped skin (n=7).

결 론

1. 절제 랫트 피부를 사용한 케토프로펜 투과에 올레인산과 라우릴 알코올의 효과가 우수하였고 올레일 알코올의 효과가 가장 낮았다. 올레인산과 라우릴산 등 지방산의 경우

농도의존적으로 투과가 증가하였으나, 올레일 알코올과 라우릴 알코올 등 지방 알코올은 농도의존성을 보이지 않았다.

2. 투여 방어막으로서 각질층의 역할을 검토하기 위해 각질층을 박리시킨 피부를 사용하여 피부 투과시험을 한 결과 투과촉진제의 종류와 관계없이 증가된 케토프로펜 투과를 보여 줌으로써 투과촉진제의 작용 부위가 각질층임을 시사하였다.

문 헌

- 1) S.K. Singh, D.S. Roane, I.K. Reddy, M.J. Durrani and M.A. Khan, Effect of additives on the diffusion of ketoprofen through human skin, *Drug Develop. Ind. Pharm.*, **22**, 471-474 (1996).
- 2) C.D. Herzfeldt and R. Kummel, Dissociation constants, solubilities and dissolution rates of some selected nonsteroidal anti-inflammatories, *Drug Develop. Ind. Pharm.*, **9**, 767-793 (1983).
- 3) S.M. Harrison, B.W. Barry and P.H. Dugard, Effects of freezing on human skin permeability, *J. Pharm. Pharmacol.*, **36**, 261-262 (1984).
- 4) S. Santoyo, A. Arellano, P. Ygartua and C. Martin, Enhancement of piroxicam permeation through rat skin, *Proc. 1st World Meeting APGI/ APV*, Budapest, 707-708 (1995).
- 5) G.M. Golden, J.E. Mckie and R.O. Potts, Role of stratum corneum lipid fluidity in transdermal drug flux, *J. Pharm. Sci.*, **76**, 25-28 (1987).
- 6) P.G. Green, R.H. Guy and J. Hadgraft, In vitro and in vivo enhancement of skin permeation with oleic and lauric acids, *Int. J. Pharm.*, **48**, 103-111 (1988).
- 7) B.W. Barry, Mode of action of penetration enhancers in human skin, *J. Control. Release*, **6**, 85-97 (1987).
- 8) A. Naik, L.A.R.M. Pechtold, R.O. Potts and R.H. Guy, Mechanism of oleic acid-induced skin penetration enhancement in vivo in humans, *J. Control. Release*, **37**, 299-306 (1995).
- 9) M. Walker and J. Hadgraft, Oleic acid- a membrane fluidiser or fluid within the membrane?, *Int. J. Pharm.*, **71**, R1-R4 (1991).
- 10) M.L. Francoeur, G.M. Golden and R.O. Potts, Oleic acid: Its effects on stratum corneum in relation to (trans) dermal drug delivery, *Pharm. Res.*, **7**, 621-627 (1990).
- 11) B. Ongpipattanakul, R.R. Burnette, R.O. Potts and M.L. Francoeur, Evidence that oleic acid exists in a separate phase within stratum corneum lipids, *Pharm. Res.*, **8**, 350-354 (1991).
- 12) B.J. Aungst, N.J. Rogers and E. Shefter, Enhancement of naloxone penetration through human skin in vitro using fatty acids, fatty alcohols, surfactants, sulfoxides and amides, *Int. J. Pharm.*, **33**, 225-234 (1986).
- 13) D.M. Small, Lateral chain packing in lipids and membranes, *J.*

- Lipid Res.*, **25**, 1490-1500 (1984).
- 14) P.G. Green and J. Hadgraft, Facilitated transfer of cationic drugs across a lipoidal membrane by oleic acid and lauric acid, *Int. J. Pharm.*, **37**, 251-255 (1987).
- 15) M. Yamada, Y. Uda and Y. Tanigawara, Mechanism of enhancement of percutaneous absorption of molsidomine by oleic acid, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3399-3406 (1987).