

니오솜을 이용한 병풀 추출물 외용제의 제조 및 평가

김동우 · 조미현 · 박선영 · 이종화 · 이계원* · 박목순** · 박진규** · 지용길†

충남대학교 약학대학, *건양대학 제약공학과, **동국제약

(2002년 8월 20일 접수 · 2002년 10월 14일 승인)

Preparation and Evaluation of Titrated Extract of Centella Asiatica Niosome/W/O System Cream for Site Specific Targeting

Dong Woo Kim, Mi Hyun Cho, Sun Young Park, Jong Hwa Lee, Gye Won Lee*,
Mork Soon Park**, Jin Kyu Park** and Ung Kil Jee†

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

*Dep. of Pharmaceutical Engineering, Konyang University, Nonsan 320-711, Korea

**Dongkook Pharmaceutical Research Institute, Jincheon, Chungbuk 365-864, Korea

(Received August 20, 2002 · Accepted October 14, 2002)

ABSTRACT—For preventing and curing the stretching mark, TECA Niosome/W/O system creams were formulated using Titrated Extract of Centella Asiatica (TECA) which is well known for its excellent wound healing effect. The lipid-water partition coefficients and the stabilities of TECA were evaluated and TECA Niosome/W/O system (TECA N/W/O) creams were prepared with different concentrations of cetyl alcohol and ceramide. TECA N/W/O cream was evaluated with respect to their rheological properties, permeation through excised skin of hairless mouse and *in vitro* and *in vivo* accumulation in the skin of hairless mouse. In addition, dermal thicknesses of hairless mouse skins were determined following the *in vivo* application of TECA N/W/O cream and control cream. TECA N/W/O creams showed pseudoplastic flow and hysteresis loop. The permeation of TECA from formulations through excised skin of hairless mouse did not observed. Amount of accumulated drug in the excised skin of hairless mouse was decreased with an increase in the concentration of cetyl alcohol and showed no relationship with concentration of ceramide. Amount of accumulated drug in formulation A-3 was higher than in niosome suspension and other formulations. In *in vivo* experiment, amount of accumulated drug in formulation A-2 and A-3 was much higher than that of niosome suspension. Being treated with the N/W/O cream for 8 weeks, the dermal thickness of hairless mouse skin was increased 3.2 times than that of 16 weeks-control group.

Key words—TECA, niosome, Niosome/W/O system cream

의약품 제제 개발의 연구목적은 약물을 투여할 때 표적부위에 선택적으로 수송시키고 그 부위에서 원하는 시간동안 작용하도록 하여 최대의 치료 효과를 발현하도록 하고 다른 부위나 조직으로는 약물의 송달을 최소화시켜 부작용을 적게 할 수 있는 약물 수송체를 개발하는데 있다. 표적지향, 지속작용, 부작용의 경감을 위한 제제화의 연구 중 하나로 인지질 등에 의한 지질 미립자 운반체를 이용하는 리포솜을 들 수 있다.¹⁾ 하지만 리포솜은 사용되는 인지질이 화학적으로 불안정하여 산화적 분해가 일어나기 쉽고,²⁾ 고가이며 정제가 어려운 단점이 있다. 이러한 문제점을 개선하고자 안정성이 좋고, 보다 경제적인 양친매성 물질을 이용하여 약물수송체를 개발하려는 연구의 일환으로 리포솜과 구조가 유사하

며 비이온성 계면활성제를 사용하여 이중막을 형성하는 니오솜이 연구되었다.³⁾ 니오솜은 극성 및 비극성 물질을 봉입할 수 있고, 안정하고 또한 제조시 사용되는 계면활성제가 보관과 취급 시에 특별한 조건이 필요하지 않다는 장점을 가지고 있다.⁴⁾ 니오솜의 제조방법은 리포솜 제조방법과 같으며,⁴⁾ 이중층의 수에 따라 multilamellar vesicles, small unilamellar vesicles,⁵⁾ large unilamellar vesicles⁶⁻⁸⁾ 등으로 분류되고 있다. 약물의 봉입은 제조방법, 계면활성제의 조성 및 수화시간 등에 영향을 받고,⁹⁾ 수용성 약물의 경우는 니오솜의 내부에, 지용성 약물의 경우는 계면활성제의 사이에 존재하게 된다. 니오솜 제조 시 콜레스테롤을 첨가하면 수용성 약물은 니오솜 용적의 증가에 따라 봉입율이 증가되고,¹⁰⁾ 지용성 약물인 경우 봉입율은 감소되나 니오솜 이중층의 유연성이 증대되므로 약물의 투과효과가 증가됨이 보고되었다. 이러한 특성들은 니오솜의 피부 적용제제로서 개발 가능성을 보여

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 042)821-5934, E-mail : ukjee@cnu.ac.kr

준다

또한 다중 유제는 구형의 분산상이 더 작은 소적을 둘러싸고 있는 에멀전이며, W/O/W(water-oil-water)형이나 O/W/O(oil-water-oil)형이 있다. 다중유제는 적용시 분산상이 파괴되는 정도를 조절하여 지속성 방출의 수단으로 사용될 수 있고, 봉입된 약물을 보호할 수 있으며,¹¹⁾ 또한 서로 친화성이 없는 물질을 하나의 분산계 안으로 도입시킬 수 있어서 제제설계에 많이 응용되어 왔다.¹²⁻¹⁴⁾

병풀 정량추출물(이하 TECA)에는 asiaticoside 40%, madecassic acid 30%와 asiatic acid 30%가 주성분으로 함유되어 있으며, 이 물질들은 피부조직의 재생력을 갖는 약물로 콜라겐 생성을 촉진시키는 것으로 알려져 있고, 현재 임상에서 상처 치료 목적의 연고제로 사용되고 있는 약물이다.

따라서, TECA를 주성분으로 니오솜을 이용하여 약물을 피부에 표적화시키고, 다중 유제 시스템(Niosome/W/O system)의 유상과 수상으로 피부에 적용시 유연성과 보습을 유지하며 또한 니오솜에 봉입된 약물의 피부투과 증진 및 피부층의 지속작용을 피함으로써, 피부의 팽창선조(stretching mark) 생성을 예방하고 치료할 수 있는 외용 제제를 개발하는 것을 목적으로 하고 있다.

실험방법

시약 및 기기-시약은 Titrated Extract of Centella Asiatica(TECA, asiaticoside가 약 40%, madecassic acid가 약 30%, asiatic acid 약 30% 함유)는 동국제약(주)으로부터 공급받았고, 세라미이드와 phytosphingosine은 두산(주)에서, 토코페롤은 태경(주)에서 공급받아 사용하였다. Span 60, 백색바셀린 및 세틸알코올은 덕산(주)에서 구입하여 사용하였고, 콜레스테롤은 Shinyo Pure Chemicals사에서, 폴록사머 188은 BASF사(Germany)에서, 프로필렌글리콜과 올리브유는 Junsei사(Japan)에서 구입하여 사용하였다.

기기는 HPLC(Waters 2690 alliance, Waters 996 Photodiode Array Detector, Waters, U.S.A), 점도계(Brookfield Engineering Labs Inc., U.S.A), Franz형 확산셀(Bull Co. Ltd., Korea), 영상판독기(Leika Q600, Leika, England), 진탕배양기(Changsin Sci., Korea), 증발농축건조기(Buchi RotavaporR 110, Switzerland), 고압진공펌프(vacuum pump DD-40, Precision Scientific, U.S.A.), ultra sonicator (Branson Co., U.S.A.), vortex mixer(Model 1801, Dong Yang Science Co., Korea), high shear homogenizer(IKA-Werke, Junke & Kunkel GmbH & CoKG, Germany) 등을 사용하였다.

실험동물은 4-8주령 웅성 무모마우스를 (주)샘타코(오산, Korea)에서 구입하여 온도 20~23°C, 상대습도 55±5%, 명암교대시간 12시간의 동물 사육조건에서 1주일간 적응시킨 후 사용하였다.

TECA의 유수분배계수 측정-미리 유상으로 포화시킨 pH 4, 5, 6 및 7.4(0.01 M) 완충액에 TECA를 1×10⁻⁴ M의 농도로 용해시켜 이를 수상으로 하였으며 미리 수상으로 포화시킨 옥탄올을 유상으로 하였다. Kakemi 등¹⁵⁾의 방법에 따라 마게달린 시험관에 수상과 유상을 각각 10 ml씩 넣어 37±0.5°C에서 1시간 동안 200 rpm으로 진탕하여 평형에 도달시킨 후 1시간 방치하고, 유상을 분취하여 HPLC로 측정하여 유수분배계수(Ko/w)를 계산하였다.

TECA의 토코페롤에 의한 안정성 시험-1% TECA 함유 메탄올 용액에 1, 2 및 3%의 토코페롤을 가하여 40°C의 가혹조건에서 10, 30 및 50일에 잔존하는 TECA의 양을 HPLC로 측정하였다. 이때 컬럼은 μ Bondapak™(C₁₈, 3.9×300 mm), 이동상은 메탄올:물:아세트니트릴=30:40:30, 유속은 1 ml/min, 주입량은 50 μ l, 파장은 214 nm이었다.

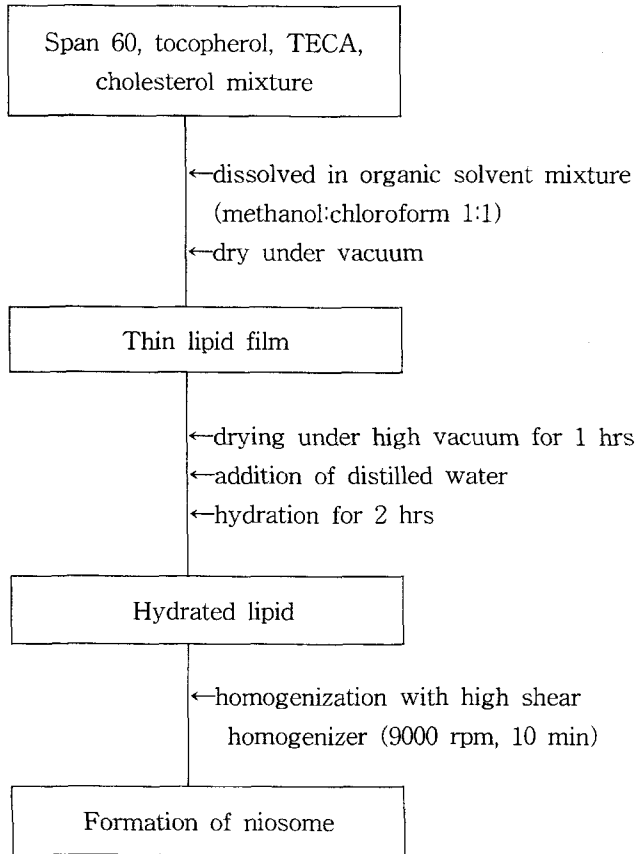
니오솜의 제조 및 평가

니오솜 제조-니오솜은 Baillie 등⁴⁾의 방법을 변형하여 계면활성제와 콜레스테롤의 총량을 500 μ mol/ml로 고정시키고, Span 60과 콜레스테롤을 1:1과 2:1의 물비로 칭량하고 TECA와 토코페롤을 각각 1 g씩 칭량한 후, 메탄올과 클로로포름 혼합액(1:1 v/v) 20 ml에 용해시켜 scheme I의 제조 방법에 따라 니오솜 현탁액을 제조하였다.

니오솜 형성의 관찰-제조된 니오솜 현탁액을 100배 희석하여 slide에 떨어뜨린 후, 건조하여 영상판독기(Image analyzer, Leika Q600)로 니오솜의 성상을 관찰하였다.

니오솜의 봉입률 측정-한외여과장치(MWCO 300,000)에 일정량의 물을 가한 니오솜 현탁액을 넣고 질소 가스 압력으로 한외여과시키는 조작을 3회 반복하여 봉입되지 않은 TECA를 제거하여 니오솜 현탁액을 바이알에 넣고 질소로 충전시켜 냉장보관하였다. 남아 있는 니오솜 현탁액 0.5 g에 메탄올 2.0 g을 가하여 혼합한 후, 여과하여 여액 100 μ l를 취하여 메탄올 400 μ l로 희석하여 HPLC로 봉입된 약물의 함량을 측정하였다.

TECA N/W/O cream의 제조-수상으로는 5% 폴록사머 188 수용액과 프로필렌 글리콜을 함께 사용하였고, 유상으로는 올리브유, 백색바셀린, 세라미이드를 혼합 용해하여 사용하였다. Table I의 조성에 따라 세틸알코올과 세라미이드의 농도를 1.5, 3 및 4.5%와 0.1, 0.5 및 1%로 변화시켜 TECA N/W/O cream을 scheme II의 방법으로 제조하였다.



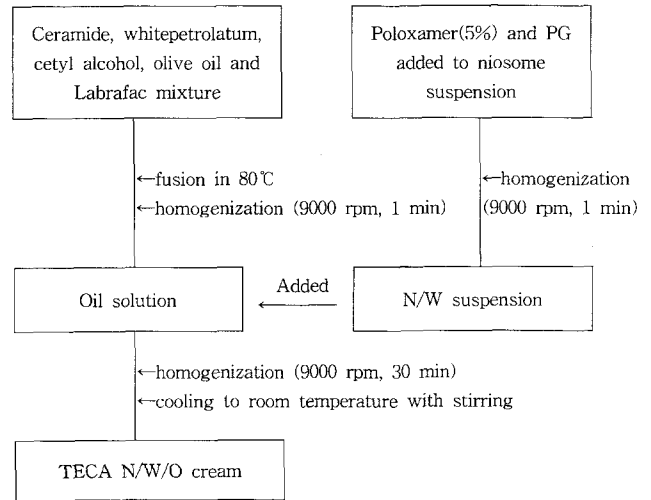
Scheme I-Preparation of niosome.

Table I-Formulation design of TECA Niosome/W/O system creams containing different concentrations of cetyl alcohol and ceramide

	pH of water phase			
	7.4	6	5	4
Asiaticoside	0.055±0.003	0.053±0.004	0.079±0.018	0.060±0.004
Madecassic acid	1.448±0.024	1.720±0.158	1.841±0.178	1.482±0.159
Asiatic acid	1.230±0.082	1.375±0.229	1.842±0.156	1.660±0.056

TECA NW/O cream의 유동학적 성질-점도는 Brookfield 점도계를 사용하여 측정하였다. 이때 셀은 cp-50 type, 시료의 양은 0.5 g을 사용하였으며, 측정 온도는 25±1°C를 유지하고 측정 전에 0점 조절을 하였다. 전단 속도를 0~153.6 sec⁻¹로 변화를 주어 겔보기 점도를 측정하여 제제의 레오그램을 작성하였다.

In vitro 피부 투과 시험-Table I의 처방중에서 점도의 변화에 따른 처방(처방 A, A-1, A-2)과 세라마이드 농도에 따른 처방(처방 A, A-3, A-4) 및 니오솜 현탁액으로부터 TECA의 피부투과 실험은 8주령 웅성 무모 마우스의 피부



Scheme II-Preparation of TECA Niosome/W/O system cream.

를 적출하여 Franz형 확산셀을 사용하여 37±0.5°C에서 600 rpm으로 교반하면서 측정하였다. 이 때 크림을 투여한 피부의 면적은 2.303 cm²이었으며 receptor phase는 pH 7.4 등장 인산염 완충액 11.8 ml로 채웠다. TECA cream 0.5 g을 피부 표면에 도포하고 12시간까지 일정시간마다 0.2 ml의 receptor phase를 채취하여 HPLC에 직접 주입하여 약물을 정량하였다. 채취된 양은 즉시 동온동량의 pH 7.4 등장 인산염 완충액으로 보충하였다

피부내 약물 침적 시험-In vivo 실험으로, 8주령의 웅성 무모 마우스의 복부에 면적 2.303 cm²의 원을 그려 각 제제(처방 A-2, A-3 및 니오솜 현탁액) 200 mg을 원안에 고르게 바른 후, 6시간 후에 피부에 남은 약물을 메탄올로 완전히 씻은 다음 피부를 적출하였다.¹⁶⁾ 적출한 피부를 작게 자른 다음 메탄올 10 ml를 가하고 5분간 교반하여 하룻밤 방치하고, 30분간 sonication한 다음 조직 연마기로 10분간 분쇄하여 15000 rpm으로 원심분리 한 후, 상정액을 취하여 여과한 여액을 HPLC에 직접 주입하여 약물을 측정하였다. 또한 in vitro 실험으로, 적출피부에서 약물의 투과 실험을 12 시간 동안 하고 이 실험에 사용한 피부를 in vivo 침적 실험과 같은 조작으로 처리하여 적출피부내의 약물량을 정량하였다.

TECA NW/O cream의 피부 조직에 대한 평가-8주령의 웅성 무모 마우스 5마리를 각군으로 하여 복부 전체에 약물이 없는 대조기제크림 및 TECA N/W/O cream(처방 A-3)을 각각 200 mg씩 8주 동안 하루에 한번 고루 발라 주었다. 제제 적용 8주 후에 무모 마우스의 복부쪽 피부를 적출하여 Bouins solution에 담가 피부를 고정시키고 적절한 크기로 피부를 잘라 paraffin embedding을 한 다음 5 µm 정도의

Table II—Partition coefficients of TECA using octanol as organic phase and water as aqueous phase (mean±S.D., n=3)

Formulation	Compound	Entrapment efficiency (%)
A ^{a)}	Asiaticoside	57.76
	Madecassic acid	80.33
	Asiatic acid	78.79
B ^{b)}	Asiaticoside	50.62
	Madecassic acid	86.57
	Asiatic acid	86.25

^{a)}A; molar ratio 1:1 of Span 60 and cholesterol

^{b)}B; molar ratio 2:1 of Span 60 and cholesterol

수직 단면으로 잘라 슬라이드를 만든 후, Massons Trichrome 염색법^{17,18)}으로 염색하여 광학 현미경으로 관찰하고 영상 관독기로 결과를 분석하였다. 8주령의 무모 마우스와 제제를 발라 주지 않은 16주령의 대조군에 대해서도 같은 조작 과정으로 처리하여 비교 실험하였다.

실험결과 및 고찰

약물의 유수 분배 계수-pH에 따른 약물의 유수 분배 계수는 pH 5일 때 가장 높았으나 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다. Madecassic acid와 asiatic acid가 asiaticoside보다 유수분배계수가 높아 지용성이 큰 것으로 나타났으며 madecassic acid와 asiatic acid 두 성분간에는 유의성 있는 차이는 없었다(Table II).

TECA의 토크페롤에 의한 안정성-토크페롤 1, 2 및 3% 농도에서의 TECA의 안정성 시험은 50일 동안 잔존량을 일정기간 마다 측정하여 Figure 1에 나타내었다. TECA의 안정성에는 토크페롤의 농도가 큰 영향을 주지 않는 것으로 나

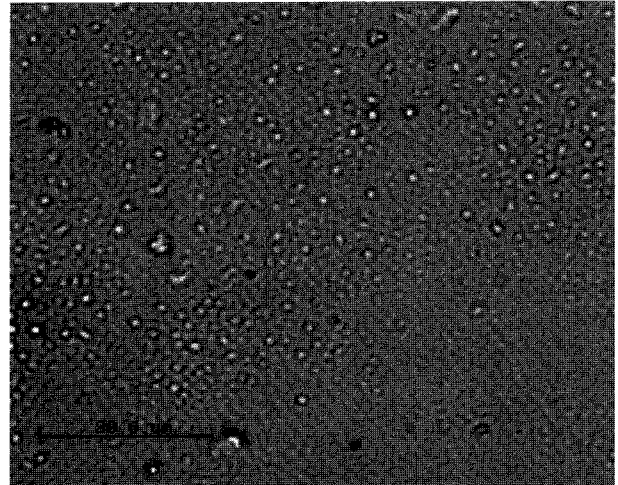


Figure 2—Photomicrograph of niosome dispersed in water after dilution one hundred times by image analyzer (x400).

타났다. 즉 asiaticoside는 유의성 있는 차이가 없었으며, madecassic acid와 asiatic acid는 50일에서 토크페롤의 농도가 1%일 때가 2 및 3%에 비하여 안정성이 더 낮았으나 유의성 있는 차이는 보이지 않았다. 따라서 토크페롤의 함량이 많아지면 니오솜의 형성에 영향을 줄 수 있으므로 1% 토크페롤의 농도로 실험에 사용하였다.

니오솜의 형성-니오솜 현탁액을 100배 희석하여 영상 관독기를 이용하여 니오솜의 형성을 확인할 수 있었다(Figure 2).

니오솜의 봉입률-Span 60(HLB 4.7)과 콜레스테롤을 병용 사용하여 니오솜의 안정성을 확보할 수 있었으며 이 때 계면활성제와 콜레스테롤 간의 조성비에 따른 약물 봉입율을 측정하여 Table III에 나타내었다. 봉입율은 계면활성제와 콜레스테롤간의 조성비에 따라서 약간 차이가 있어 asiaticoside는 계면활성제와 콜레스테롤의 몰 비 2:1일 경우에 몰 비

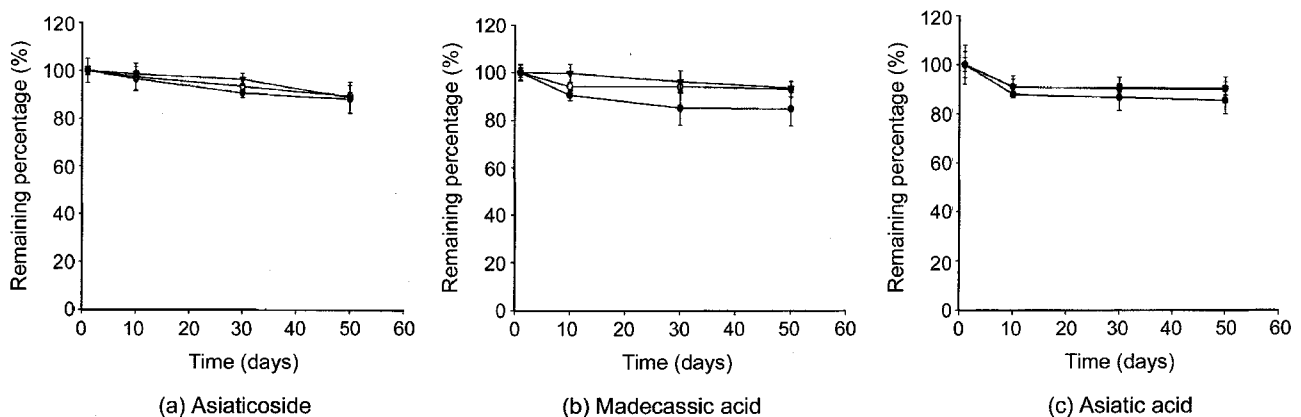


Figure 1—Stability profiles of asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid with different concentration of tocopherol at 40°C (mean±S.D., n=4). Key: -●-; 1% tocopherol, -○-; 2% tocopherol, -▼-; 3% tocopherol.

Table III—The efficiency of TECA entrapped into niosomes containing surfactant and cholesterol

Formulations	Amount of asiaticoside ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
A-1	261.92±242.37
A-2	152.91±19.17
A-3	389.84±329.77
A-4	314.84±161.51
Niosome suspension	314.73±28.87

Table IV—Rheological properties of TECA Niosome/W/O system creams with different preparation

	Apparent viscosity (app, mean, n=3)	
	Up-curve (Pa · sec)	Down-curve (Pa · sec)
A	2271.786	1484.453
A-1	3245.552	2053.151
A-2	3433.526	2139.568
A-3	1936.628	1112.853
A-4	3003.88	2036.438

1:1일 경우보다 낮았지만 madecassic acid와 asiatic acid는 물 비 2:1일 경우 더 높았다. 수상에서 안정한 asiaticoside는 니오솜에의 봉입율이 적어도 안정성에 영향이 적지만 수상에서의 안정성이 떨어지는 madecassic acid와 asiatic acid는 니오솜 내로의 봉입율이 많을수록 안정성이 향상될 수 있으므로 계면활성제 Span 60과 콜레스테롤의 조성을 물 비 2:1로 하여 제제 설계에 이용하였다.

유동학적 성질—약물의 피부투과, 피부내 침적 영향 및 제제 안정성을 검토하기 위하여 제제의 유동학적 성질¹⁹⁾ 즉 겔보기 점성도(η_{app})와 전단응력을 전단속도로 나눈 값의 평균값을 측정하여 Table IV와 Figure 3에 나타내었다. TECA N/W/O cream의 유동성은 비뉴턴계 중에서 원점을 통과하면서 거의 직선성이 없는 유사 소성 흐름을 나타내었다. 처방 제제 중에서 세틸알코올의 함량이 가장 높은 A-2의 겔보기 점도가 높게 나타났고 세라마이드의 함량이 가장 많은 A-3의 겔보기 점도가 낮게 나타났다. 각각의 레오그램은 상향곡선의 모양이 부푼듯한 곡선(bulged curve)을 형성하였고, 하향곡선이 상향곡선의 좌측으로 이동되어 이력고리를 형성하여 요변성이 있음이 확인되었으므로 제제의 물리적 안정성이 좋을 것이라는 예측을 할 수 있었다.

In vitro 약물의 피부 투과—처방 A, A-1, A-2, A-3, A-4 및 니오솜 현탁액의 피부투과실험 결과 모든 처방에서 asiaticoside, madecassic acid 및 asiatic acid 세 성분 모두 검출되지 않았다.

피부내 약물 침적—In vitro 실험으로 적출피부에서 12시간 동안 침적된 약물양과 in vivo 실험으로 무모마우스의 복부

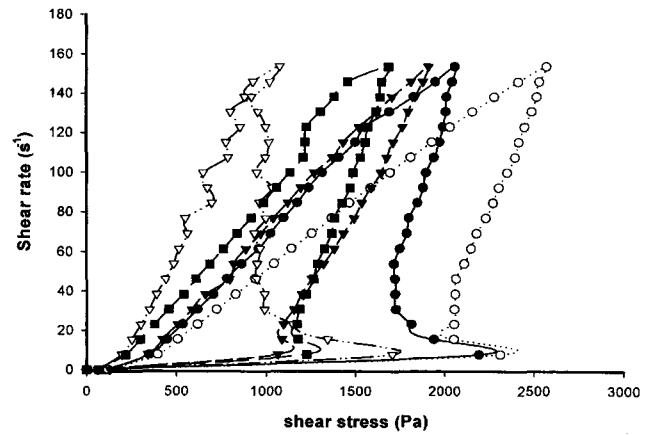


Figure 3—Rheograms of different formulations. Relationship between shear rate and shear stress is anticlockwise. Key : -●-; formulation A, -○-; formulation A-1, -▼-; formulation A-2, -▽-; formulation A-3, -■-; formulation A-4.

Table V—Amount of asiaticoside accumulated in the hairless mouse after application of each formulation for 6 hours (mean±S.D, n=3)

Ingredient	Formulation (w/w %)				
	A	A-1	A-2	A-3	A-4
Niosome	37	37	37	37	37
Poloxamer (5%)	6	6	6	6	6
Propylene glycol	5	5	5	5	5
Ceramide	0.5	0.5	0.5	1	0.1
Labrafac	2	2	2	2	2
White petrolatum	18	18	18	18	18
Cetyl alcohol	1.5	3	4.5	1.5	1.5
Olive oil	q.s to 100	q.s to 100	q.s to 100	q.s to 100	q.s to 100

Table VI—Amount of asiaticoside accumulated in excised skin of hairless mouse after application of each formulation for 12 hours (mean±S.D, n=3)

Formulations	Amount of asiaticoside ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
A-2	1286.11±397.81
A-3	1386.55±966.28
Niosome suspension	439.85±160.37

쪽 피부에 6시간 동안 침적된 약물양을 측정하여 Table V와 VI에 나타내었다. In vitro 실험에서, 세틸알코올의 함량이 각각 2배와 3배 많이 함유된 처방 A-1과 A-2 제제 중의 약물의 피부 침적량이 매우 낮게 나타나 세틸알코올의 함량에 따른 제제의 점도 증가가 약물의 피부 투과를 억제함을 확인할 수 있었다. 일반적으로 세라마이드는 피부의 라멜라 구조를 회복시켜 피부 정상화를 유지하게 하고 피부의 수분 유지 기능은 하지만 함량이 피부투과율에 영향을 주는 것으로

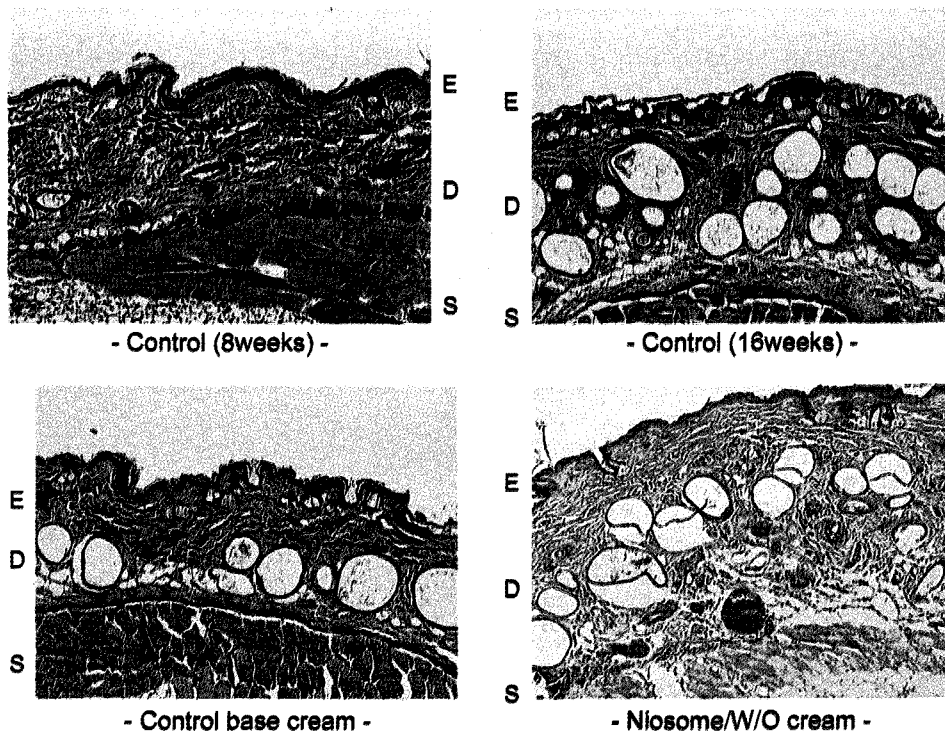


Figure 4—Morphology of cross section of hairless mouse skin following 60 days of application of each formulation daily. E; the epidermal tissue D; the dermal tissue S; subcutaneous fatty tissue.

알려져 있지만,²⁰⁾ 본 실험에서는 피부투과율에 유의성 있는 차이가 없었으므로 세라마이드의 함량과 약물의 침적에 영향을 주지 않았다. *In vivo* 실험에서, 처방 A-2와 A-3의 asiaticoside 침적량이 각각 1286와 1386 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 로 니오솜 현탁액의 침적량 439 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 에 비하여 현저히 높은 값을 나타냈는데, 이는 니오솜 현탁액의 경우 보습작용이 적어 피부가 빨리 건조되었고, 처방제제의 경우 외부의 오일상에 의해 피부의 보습상태가 유지되고 내상의 니오솜 시스템이 약물의 투과를 촉진시켰기 때문에 나타난 결과라고 생각된다.

TECA N/W/O cream의 피부 조직에 대한 평가- 무모 마우스의 복부에 각각의 제제를 8주동안 적용한 후, 복부 피부를 적출하여 Bouins solution에 고정하고 절편하여 만든 피부조직 슬라이드를 Massons Trichrome 염색법으로 염색하여 광학 현미경으로 관찰한 결과를 Figure 4에 photomicrograph로 나타내었고, 각 진피층의 두께를 측정된 값을 Figure 5에 나타내었다.

일반적으로 피부의 진피층은 무모 마우스가 성장함에 따라 콜라겐 및 엘라스틴 섬유가 생성되므로 증가되는 경향이 있는데 제제를 발라주지 않은 16주령의 대조군의 진피층은 8주령의 대조군의 진피층에 비해 진피층 두께가 25.46 μm 증가하였고, 약물이 없는 대조기제크림을 발라준 군의 진피

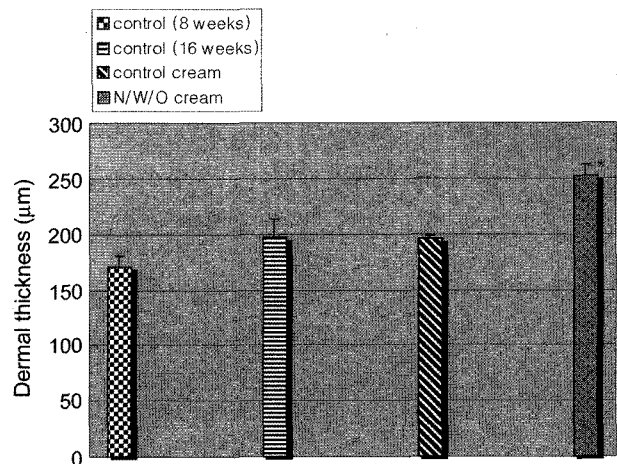


Figure 5—Comparison of dermal thicknesses of hairless mouse skin after application of each formulation for 8 weeks (mean \pm S.D., n=4), *, $p < 0.01$.

조직은 약물을 바르지 않은 16주령의 대조군과 거의 같은 증가 양상을 보여서 기제 자체에는 콜라겐과 엘라스틴 섬유의 생성에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다($p > 0.05$). 제제 설계에 의한 외용제 (처방 A-3)는 8주령 대조군보다 $80.74 \pm 10.50 \mu\text{m}$ (n=4) 증가되어 16주령 대조군의 증가율에

비해 약 3.2배가 더 증가된 것으로 TECA N/W/O 크림이 진피층의 두께를 유의성 있게 증가시키는 것을 확인하였다 ($p < 0.01$). 최근에는 팽창선조의 치료에 있어 콜라겐 및 엘라스틴의 합성을 증가시키는 방법을 많이 이용하고 있으므로 피부 진피조직의 콜라겐 및 엘라스틴 섬유 생성을 유의성 있게 증가시키는 TECA N/W/O 크림은 치료제로서의 우수한 효과뿐만 아니라 팽창선조의 생성을 예방할 수 있을 것으로 기대되므로 효용가치가 매우 크다고 할 수 있다.

결 론

병폴 정량 추출물의 물리화학적 성질을 측정하여 니오솜을 이용한 TECA N/W/O cream을 제조한 후, 세틸알코올과 세라마이드의 농도변화에 따른 점도, 피부 투과시험, 피부 침적 시험 및 피부 조직에 대한 평가를 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. TECA의 유수분배계수는 pH 5에서 가장 높아 asiaticoside, madecasic acid 및 asiatic acid는 각각 0.079, 1.841 및 1.842이었다.

2. TECA N/W/O cream은 모두 원점을 통과하는 이력고리를 형성하며 요변성을 가지는 유사소성 흐름을 나타내었다.

3. 모든 처방의 TECA N/W/O cream은 피부투과가 없었으며 약물 침적량은 세틸알코올의 함량이 높을수록 낮았고 세라마이드에 의해서는 영향을 받지 않았다.

4. TECA N/W/O (처방 A-3) cream을 8주동안 처리한 후, 진피층의 두께는 16주령 대조군의 증가율에 비해 3.2배가 증가되어 유의성 있는 증가를 보였다.

이상의 실험으로부터 TECA N/W/O cream은 피부 팽창선조의 예방 및 치료제제로서의 개발 가능성을 보여 주었다.

문 헌

- 1) A.D. Bangham, M.M. Standish and J.C. Watkins, Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids, *J. Mol. Biol.*, **13**, 238 (1965).
- 2) M. Ausborn, P. Nuhn and H. Schreier, Stabilization of liposomes by freeze-thaw and lyophilization techniques : problems and opportunities, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **38**, 133 (1992).
- 3) R.M. Handjani-Vila, A. Riber, B. Rondot and G. Vanlerghie, Dispersions of lamellar phase of non-ionic lipids in cosmetic products, *Int. J. Sci.*, **1**, 303 (1979).
- 4) A.J. Baille, A.T. Florence, L.F. Hume, G.T. Murihead and A. Rogerson, The preparation and properties of niosomes : non-ionic surfactant vesicles, *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, 863 (1985).

- 5) C.H. Huang, Studies on phosphatidylcholine vesicles formulation and physical characteristic, *Biochemistry*, **8**, 344 (1969).
- 6) D.W. Beamer and A.D. Bangham, Large volume liposomes by an ether vaporization method, *Biochem. Biophys. Acta*, **443**, 629 (1976).
- 7) F. Sozoka and D. Papahadjopoulos, Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous volume and high capture by reverse-phase evaporation, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **75**, 4194 (1978).
- 8) J.L. Rigand, A. Bluzat and S. Bushln, Incorporation of bacteriorhodopsin into large unilamellar liposomes by reverse evaporation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **111**, 373 (1983).
- 9) F. Olson, C.A. Hunt, F.C. Szoka, W.J. Vail and D. Papahadjopoulos, Preparation of liposomes of definded size distribution by extrusion through polycarbonate membranes, *Biochem. Biophys. Acta*, **557**, 9 (1979).
- 10) R. Ganapathi and A. Krishnan, Effect of cholesterol content of liposomes on encapsulation, efflux and toxicity of adriamycin, *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 698 (1984).
- 11) De M. Luca, J.L. Grossiord, C. Vaution and M. Seiler, A stable W/O/W multiple emulsion, *Cosmet. Toiletries.*, **105**, 65 (1990).
- 12) T. Yoshika, K. Ikeuchi, M. Hashida, S. Mauranishi and H. Sezeki, Prolonged release of bleomycin from parenteral gelatin sphere-in-oil-in-water multiple emulsion, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1408 (1982).
- 13) S. Fukushima, K. Juni and M. Makano, Preparation of drug release from W/O/W type double emulsion containing anticancer agents, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 4048 (1983).
- 14) L. Grossiord, M. Seiler and F. Pusieux, Apport des analyses rheologiques dans letude demulsions multiples, *Rheol. Acta*, **32**, 168 (1993).
- 15) K. Kakemi, T. Arita, R. Hori and R. Konish, Absorption and excretion of drugs XXX. Absorption of barbituric acid derivatives from rat stomach, *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 1534 (1967).
- 16) B. Herculien, M. Delauany-Vantrou, F. Alamichel, M. Mazza and J.P. Marty, Pharmacokinetic of cutaneous sulconazole nitrate in the hairless rat: absorption, excretion, tissue concentration, *Eur. J. Drug Metabol. Pharmacokin.*, **18**, 149 (1993).
- 17) E. Boelsma, C.H. Verhoeven and M. Ponc, Reconstruction of a human skin equivalent using a spontaneously transformed keratinocyte cell line(HaCaT), *J. Invest. Dermatol.*, **112**, 489 (1999).
- 18) J.M. Davidson, P.A. Luvalle, O. Zoia, D. Quaglino and M.G. Giro, Ascorbate differentially regulates elastin and collagen biosynthesis in vascular smooth muscle cells and skin fibroblasts by pretranslational mechanism, *J. Biochem.*, **272**, 345 (1997).
- 19) W.J. Dixon, Up & Down Methods, *J. Am. Stat. As.*, **60**, 967 (1959).
- 20) S. Teruyuki and K. Yasuhiko, Ceramide derivatives as therapeutic agents, *Exp. Opin. Ther. Patents.*, **8**, 1673 (1998).