

마이크로에멀전을 이용한 우르솔릭산 피부 적용제제의 설계 및 평가

박종희 · 경기열 · 이계원* · 지웅길†
충남대학교 약학대학, *건양대학교 제약공학과
(2005년 5월 23일 접수 · 2005년 6월 13일 승인)

Formulation Design and Evaluation of Ursolic Acid Microemulsion Delivery System for Topical Formulation

Jong-Hee Park, Kee-Yeol Kyong, Gye-Won Lee* and Ung-Kil Jee†

College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea
*Dept. of Pharmaceutical Engineering, Konyang University, Nonsan 320-711, Korea

(Received May 23, 2005 · Accepted June 13, 2005)

ABSTRACT – Ursolic acid (UA), a bioactive triterpene acid, has been known to increase collagen content in human skin in addition to other actions such as anti-inflammatory, skin-tumor prevention and anti-invasion. However, it is poorly soluble in water. Therefore, we firstly prepared microemulsion system with benzyl alcohol, ethanol and Cremophor EL, RH 40 and Brij 35 as surfactant in order to increase solubility of UA and then prepared microemulsion was dispersed in o/w cream base for the topical delivery of UA in an effort to improve anti-wrinkle effect. The pseudo-ternary phase diagrams were developed and various microemulsion formulations were prepared using benzyl alcohol as an oil, Cremophor EL, RH 40 and Brij 35 as a surfactant. The droplet size of microemulsions was characterized by dynamic light scattering. The accumulation of UA in the skin from topical cream was evaluated *in vitro* using hairless mouse skins. The mean droplet size was 26.8 ± 6.6 nm for microemulsions II with Cremophor EL. All UA creams showed pseudoplastic flow and hysteresis loop in their rheogram, depending on the type of materials added in topical creams. The *in vitro* accumulation data demonstrated the UA topical cream prepared with the combination of Poloxamer 407 and Xanthan gum as a copolymer showed higher accumulation percentage than those prepared with either Poloxamer 407 or Xanthan gum. These results suggest that UA topical cream using microemulsion systems may be promising for the topical delivery of UA.

Key words – Microemulsion, Cream, Ursolic acid, Cremophor EL

우르솔릭산(Figure 1, 이하 UA로 약함)은 그의 이성질체인 oleanolic acid와 함께 많은 약재, 허브 및 여러 가지 식물에서 발견되는 pentacyclic triterpenoid계 사포닌의 일종으로¹⁾ 항염효과, 항암효과 및 항균 특성이 있고 특히, 피부에 있어서 노화방지 및 주름개선 효과 등이 알려져 있어 일부 외용제 및 복용제 그리고 화장품 등에 사용되어 왔다.²⁾

그러나 UA는 물이나 오일 등의 용매에는 잘 녹지 않는 물성을 가지고 있기 때문에 제제화 하기 어려워 일반적으로 사용하기 어려운 문제점이 있다.

기존 약물의 효율성을 증가시키기 위한 목적으로 새로운 약물송달 시스템의 설계와 개발에 대한 많은 연구가 약제학 분야에서 진행되고 있다. Nano-particle delivery system으로서 미셀 및 마이크로에멀전^{3,4)}은 이러한 목적에 부합되는 약

물송달시스템으로 Halbert등⁵⁾은 지용성 항종양제의 가용화를 위해 마이크로에멀전 시스템을 이용하였고, 또한 국소적용

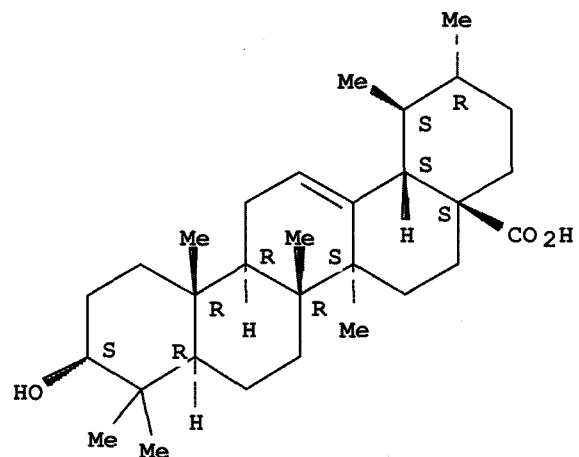


Figure 1—Chemical structure of ursolic acid.

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

수송체로서도 이용되고 있다.⁶⁻⁸⁾

또한 미셀과 마이크로에멀전은 외관상 투명하여 불순물의 혼입을 쉽게 판별할 수 있고 열역학적으로 안정하며,^{9,10)} 난용성 물질을 가용화시킬 수 있어 제제설계에 있어서 효율적이고 상품적 가치가 매우 높다.^{11,12)} 또한 약물을 표적부위에 선택적으로 수송시키고 그 부위에서 원하는 시간 동안 작용하도록 하여 최대의 치료효과를 발현하도록 하고 다른 부위나 조직으로는 약물의 송달을 최소화 시켜 부작용을 적게 할 수 있는 약물수송체로도 개발되고 있다.

본 연구의 목적은 피부에 적용 시 주름개선 효과 및 항노화 소재로 최근 각광을 받고 있는 UA를 용해도 시험을 바탕으로 벤질알코올과 에탄올을 오일상으로 3가지 계면 활성제를 이용하여 마이크로에멀전으로 제조함으로써 약물의 용해성 및 피부흡수성을 증진시키고 피부층의 지속작용을 피함으로써 약물의 생체이용율을 증가시키는 새로운 피부 외용제(dermal delivery system)로의 개발 가능성을 모색하고자 하였다.

실험 방법

시약 및 기기

시약으로는 우르솔릭산(UA), phosphatidyl choline(이하 PC), Lantte-o, Aracel 165, Aracel 60, bees wax, EDTA-2Na, glycerine, xanthan gum, vaseline, dimethicone 및 cyclomethicone은 LG생활건강(Seoul, Korea)에서 Poloxamer 407, Cremophor EL 및 RH 40은 BASF(Ludwigshafen, Germany)에서 ascorbyl palmitate는 Sigma(St. Louis, Mo, U.S.A)에서 Cerix-5(ceramide : sphingosine 50:50)는 두산 바이오테크(BU(Yongin, Korea)에서 sodium hyaluronate는 동국제약(Seoul, Korea)에서 diethyleneglycol monoethyl ester(Transcutol CG)는 Gattefossé(St. Priest, France)에서 공급받았다. 그리고 그 외의 용매는 일급 또는 특급을 사용하였다.

기기로는 light scattering particle size analyzer(ELS-8000, Otsuka electronics Co, Hirakata, Japan), viscometer (Model DV-III, Brookfield Engineering Labs Inc., Middleboro, MA, U.S.A), magnetic stirrer & hot plate (KMC-130 SH, Vision Science Co., Bucheon, Korea), 미량원심분리기(VS-15000, Vision Science Co., Bucheon, Korea), Skicon-200(I.B.S. Co., Hamatsu, Japan), Corneometer CM820(Courage & Khazaka electronic GmbH, Köln, Germany), HPLC(Waters alliance 2690 separation module, Waters 996 Photodiode Array Detector, Waters,

Milford, MA, USA), homogenizer(IKA-T25, IKA Werke GmbH, Staufen, Germany), ultrasonicator(Model 3510, Branson Ultrasonic Co., Danbury, CT, U.S.A) 및 moisture analyzer(Model MA 50, Satorius, Germany) 등을 사용하였다.

실험동물

8-10주령의 웅성 무모 마우스로 샘타코에서 구입하여 20~23°C, 상대습도 55±5%, 명암 교대 시간 12시간을 유지하는 사육조건에서 1주일간 적응시킨 후 사용하였다.

UA의 용해도

UA 일정과량(0.5 g)을 취하여 벤질 알코올, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜 및 Transcutol CG 10 ml에 각각 가해 30분간 sonication 후, 40°C에서 24시간 동안 교반하여 평형에 도달하게 하여 15000 rpm으로 10분간 원심 분리 하였다. 상층액을 취하여 막여과기로 여과하여 여액을 직접 HPLC로 측정하여 미리 작성한 김량선 식에 의하여 용해도를 측정하였다. 이 때 칼럼은 XTerra™ RP18 (5 µm, 4.6×250 mm), 이동상은 아세토니트릴 : 1.25% 인산염 완충액=86 : 14, 유속은 1.0 ml/min, 파장은 206 nm이었다.

마이크로에멀전의 제조 및 평가

상평형도 작성-유상으로 UA 함유 벤질 알코올과 에탄올 혼합액(1:1), 계면 활성제로 Brij 35, Chremophor EL 및 RH 40, 그리고 수상으로 3차 증류수를 사용하였다. UA를 용해한 벤질 알코올과 에탄올의 혼합액(1:1)을 유상으로 하고, 계면활성제의 함량비를 변화시키면서 마이크로에멀전의 전구 농축액을 제조하고 수상을 일정량씩 증가시키면서 안정한 마이크로에멀전이 형성되는 영역을 관찰한 후, 3차 증류수로 10배 희석하였을 때 24시간 동안 침전이 일어나지 않는 영역을 선택하여 상평형도를 작성하였다.

OW 마이크로에멀전 제조-작성된 상평형도에 의하여 입자

Table I-Composition of microemulsions

Ingredients	Microemulsions (g)		
	I	II	III
Ursolic acid	0.30	0.30	0.30
Benzyl alcohol	20	20	20
Ethanol	20	20	20
Brij 35	18	-	-
Cremophor EL	-	18	-
Cremophor RH 40	-	-	18
Water	q.s to 100		

가 작고 균질한 마이크로에멀전을 형성하는 영역을 바탕으로 Table I과 같은 조성에 따라 제조하였다. 벤질알코올과 에탄올(1:1) 혼합액에 0.75%로 UA를 용해시키고 계면 활성제 (Brij 35, Cremophor EL 및 RH 40)를 넣어 가온 교반하면서 용해하였다. 여기에 수상을 서서히 가하면서 1시간 동안 교반시켜 마이크로에멀전을 형성시켰다. 이 때 Brij 35, Cremophor EL 및 RH 40를 사용한 것을 각각 마이크로에멀전 I, II 및 III이라 하였다.

평균입자크기 및 입도 분포의 측정- 제조된 마이크로에멀전의 물리적인 안정성을 평가하기 위하여 평균 입자크기 및 입도 분포를 동적 광산란법을 이용하여 측정하였다.^{13,14)}

이 때 광원으로 He-Ne laser, 측정 파장은 632.8 nm, 산란각도는 90°로 설정하고 25°C±1, intensity 8000~14000 cps의 에서 3차 증류수로 5배 희석하여 측정하였다.

UA 외용제의 제조 및 평가

UA 외용제의 제조-UA의 마이크로에멀전을 O/W형 크림제에 분산시켜 외용제를 제조하였다. 즉 Table II의 처방에 따라 수상으로 1% 잔탄 검과 20% poloxamer 407, 보습제로 글리세린과 프로필렌 글리콜, 지질로 PC, Cerix-5(ceramide : sphingosine 1:1) 및 바셀린을 사용하여 Scheme 1에 따라 제조하였다.

잔탄 검과 poloxamer 407 단독 및 혼합하여 제제설계를 하여(처방 A, B 및 C) 친수성 고분자의 종류에 따른 피부 투과율을, 글리세린과 프로필렌 글리콜을 7:3(처방 A)과 5:5(처방 D)의 비율로 바꾸어 농도에 따른 보습효능을 평가하였다.

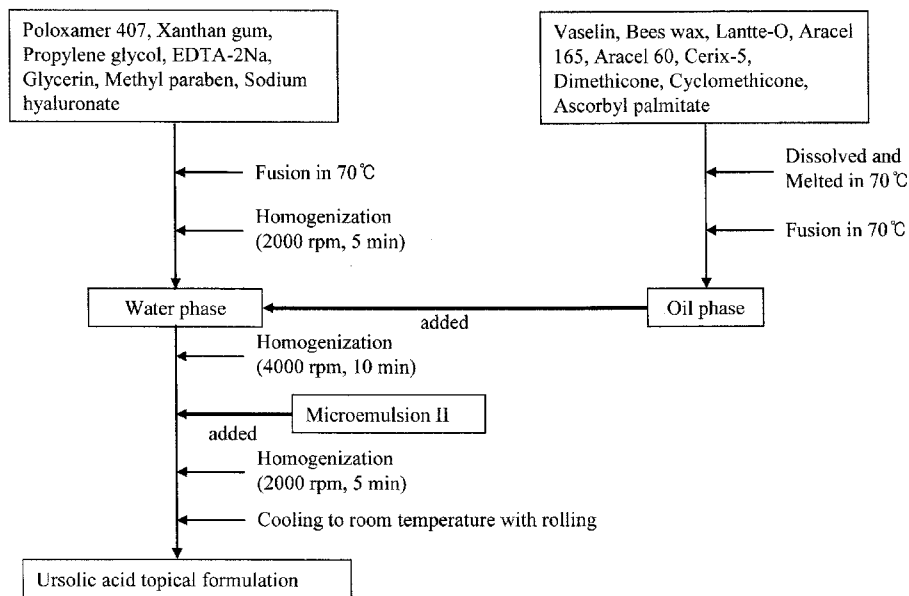
PC와 지질의 첨가여부에 의한 보습 및 피부송달 효능 실험을 위하여 기본 처방 A와 글리세린의 양을 줄이고 바셀린의 농도를 증가시킨 처방 E와 F, Cerix-5 대신 PC를 사용한 처방 G를 제조하였다.

UA 외용제의 유동학적 성질-기체의 레지올로지 특성인 온도, 퍼짐성, 점도 등이 피부 흡수에 크게 영향을 줄 뿐만 아니라¹⁵⁾ 요변성의 정도는 연합의 난이도, 피부 도포성 등을 알 수 있으므로, 제제의 유동학적 성질을 측정하여 약물의 피부투과, 피부내 침적 및 제제의 안정성과의 상관성을 검토하였다. 즉 점도는 Cone and Plate형 점도계인 Brookfield 점도계를 사용하여 측정하였다. 이 때 측정 셀은 cp-51 type, 시료의 양은 1 g을 사용하였으며 측정온도는 25±0.5°C로 유지시키고, 측정 전에 0점 조절을 하였다. 시료를 측정 셀에 가하고 일정한 전단속도를 0~173 sec⁻¹로 변화를 주어 겔보기 점도를 측정하여 제제의 레오그램을 작성하여 흐름의 양상을 파악하였다.

UA 외용제의 보습 효능 평가

건조감량 평가-제제 중의 수분 보유능 측정은 moisture analyzer를 이용하여 지름 6 cm의 원형 알루미늄박에 시료 1 g을 정확히 취하여 놓은 후, 45°C에서 5분마다 수분증발량을 측정하였고, 각 시료마다 3회 측정하여 평균값을 얻었다.

III부보습 평가-건강한 성인 남녀 6명을 대상으로 25°C, 상대습도 50% 조건에서 전완부(前腕部, ventral forearm)에 시료를 도포하고 corneometer와 skicon을 이용하여 단기 피부 보



Scheme 1-Preparation of UA topical formulations.

Table II—Topical cream formulations of UA using different polymers

Ingredients	Formulations (w/w%)						
	A	B	C	D	E	F	G
Microemulsion II	40	40	40	40	40	40	40
Glycerine	7	7	7	5	5	5	7
Propylene glycol	3	3	3	5	3	3	3
Xanthan gum	0.1	-	0.05	0.1	0.1	0.05	0.1
Poloxamer 407	-	2	1	-	-	1	-
EDTA-2Na	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Sodium hyaluronate	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Methyl paraben	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Bees wax	1	1	1	1	1	1	1
Vaseline	1	1	1	1	3	3	1
Lantte-o	3	3	3	3	3	3	3
Aracel 165	1	1	1	1	1	1	1
Aracel 60	1	1	1	1	1	1	1
Cerix-5	2	2	2	2	2	2	-
Phosphatidyl choline	-	-	-	-	-	-	2
Cyclomethicone	2	2	2	2	2	2	2
Dimethicone	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Ascorbyl palmitate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Water	q.s to 100						

습능을 평가하였다.¹⁶⁻¹⁹⁾ 시료 도포 전과 시료 도포 1, 3 및 7 시간 후 팔의 보습력을 측정하여 증가한 %값을 비교하였다.

In vitro 피부내 약물 침적 시험

8주령의 웅성 무모 마우스의 피부를 적출하여 제조된 시료 (처방 A, B, C, D, E, F 및 G)를 피부에 도포하여 Franz형 확산 셀을 사용하여 37±0.5°C에서 600 rpm으로 교반하면서 측정하였다.²⁰⁾

이 때 외용제를 도포한 피부의 면적은 2.303 cm²이고, receptor phase는 pH 7.4 등장 인산염 완충액 11.8 ml로 채웠다. UA 외용제 1g을 피부 표면에 도포하고 3, 6 및 9시간 후 피부 표면에 남은 약물을 메탄올로 완전히 씻은 다음 2.303 cm²의 원을 그려 피부를 적출하였다.²¹⁾ 적출된 피부는 해부용 가위를 사용하여 잘게 자른 뒤 메탄올 5 ml 가하고 5분간 교반한 후, 하룻밤 방치하고, 30분간 sonication한 다음 조직 연마기를 이용하여 10분간 분쇄하였다. 분쇄한 액을 15000 rpm으로 10분간 원심 분리 한 뒤에 상층액을 취하여 여과한 여액을 HPLC로 정량하여 피부내 침적된 약물량을 측정하였다.

단기 안정성 시험

Benjamin 등²²⁾의 방법을 참고하여 처방 A, B 및 C를 바 이알에 충전하여 실온과 40°C에서 0, 10, 20 및 30일에 0.1 g을 취하여 메탄올에 용해시켜 HPLC로 분석하여 UA의

Table III—Solubility of UA in various solvents at 40°C

Solvent	Solubility (mg/ml)
Benzyl alcohol	32.67
Ethanol	3.54
Propylene Glycol	2.48
1,3-Butylene Glycol	2.83
Transcutol CG	4.27

잔존량을 측정하였다.²³⁻²⁵⁾

결과 및 고찰

UA 용해도

여러 가지 용매에 대한 UA의 용해도를 측정하여 Table III에 나타내었다. 즉 벤질 알코올에서 32.67, 에탄올에서 3.54, 프로필렌 글리콜에서 2.48, 1,3-브틸렌 글리콜에서 2.83 및 Transcutol CG에서 4.27 mg/ml로 벤질알코올에서 높은 용해도를 나타내었다. 따라서 마이크로에멀전 제조시 용매로 벤질 알코올을 보조용해제로 에탄올을 선택하였다.

마이크로에멀전의 제조 및 평가

상평형도-UA, 비이온성 계면활성제, 용해보조제, 용매 및 물로 이루어진 상평형도를 작성하여 Figure 2에 나타내었다.

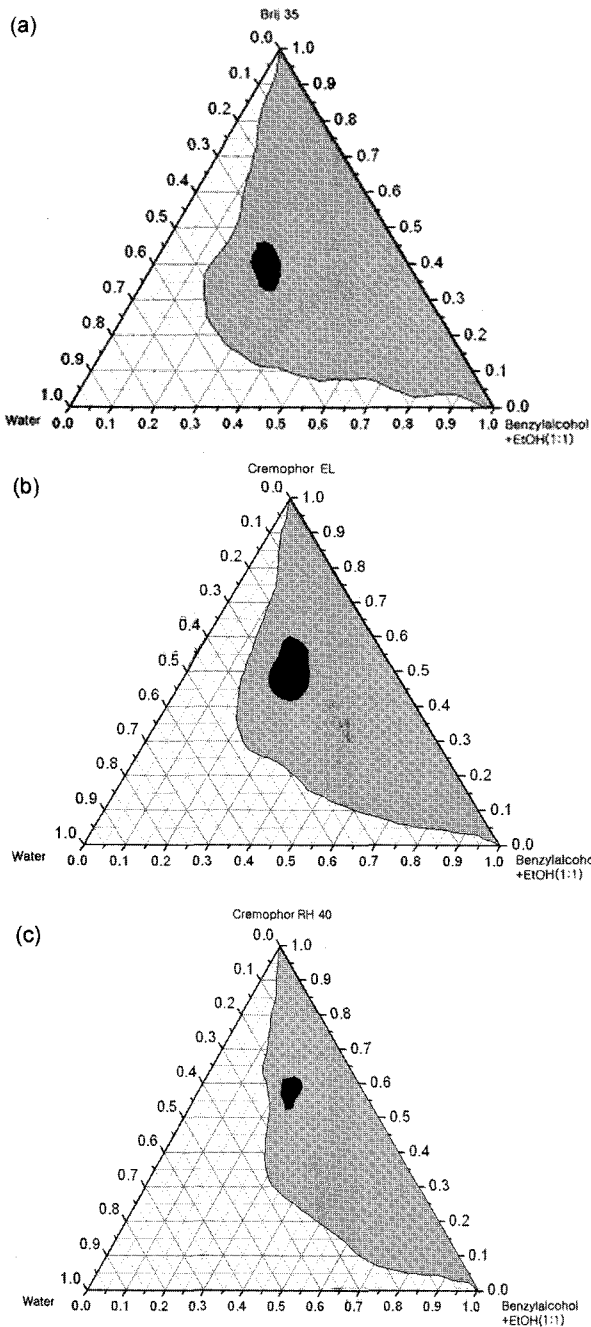


Figure 2–Phase diagram of microemulsions.
 Key : (a) Benzyl alcohol/ethanol : Brij 35 : water, (b) Benzyl alcohol/ethanol : Cremophor EL : water, (c) Benzyl alcohol/ethanol : Cremophor RH 40 : water.
 ■ stable region (before dilution), ■ stable region (after 24 hours of dilution).

Table IV–Mean particle size of microemulsions(Mean±S.D)

Microemulsions	Mean particle size (nm)
I	7610.9±360.1
II	26.8±6.6
III	37.2±7.0

넓은 영역에서 마이크로에멀전을 형성하였으나 24시간 경과 시 침전이 형성되지 않는 안정한 영역의 나노입자를 형성하는 범위는 벤질 알코올:에탄올 : Brij 35 : 물의 전체중량 비는 Brij 35의 경우 20~30 : 35~45 : 30~40, Cremophor EL의 경우 20~35 : 40~60 : 20~35, Cremophor RH 40의 경우 20~30 : 50~60 : 20~30이었다. 따라서 침전을 형성하지 않는 안정한 마이크로에멀전을 형성하는 영역을 적용하기로 하였다.

평균입자크기와 입도분포-3종의 계면 활성제를 이용하여 제조한 마이크로에멀전의 평균입자크기와 입도분포를 측정하여 Table IV에 나타내었다. 즉 마이크로에멀전 I, II 및 III의 입도분포는 각각 7610.91±360.1, 26.8±6.6 및 37.2±7.0 nm로서 Brij를 사용한 마이크로에멀전 I보다는 II와 III에서 상대적으로 작은 분포를 나타내었고 특히 Cremophor EL을 계면활성제로 사용한 II는 상평형도에서도 넓은 영역에서 안정한 계를 형성하는 것으로 나타났으므로 이용하여 UA 의 용제제를 제제설계하기로 하였다.

Table V–Mean viscosities of various UA topical formulations at shear rate 76.8 sec⁻¹(25°C, Mean±S.D, n=3)

Formulations	Viscosity (cps)
A	1312±112
B	1649±89
C	2080±161
D	1068±44
E	1611±104
F	1869±61
G	1352±61

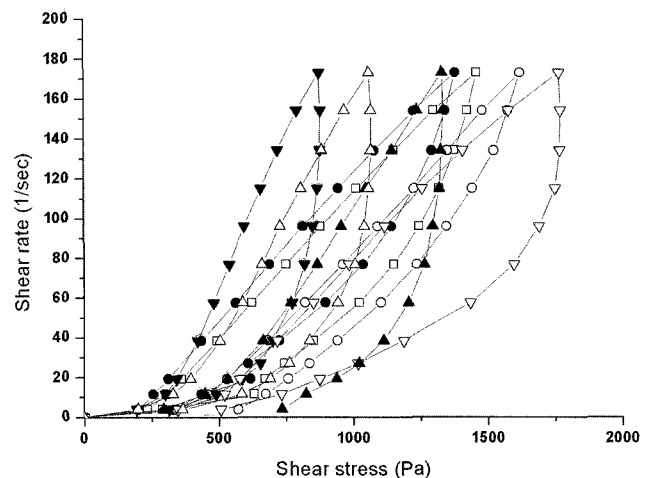


Figure 3–Rheogram of UA topical formulations.
 Key : -△- Formulation A, -▲- Formulation B, -▽- Formulation C, -▼-Formulation D, -○- Formulation E, -●- Formulation F, -□- Formulation G.

UA 외용제의 평가

유동학적 성질- 약물의 피부투과, 피부내 침적량의 영향 및 제제의 안정성에 영향을 주는 제제의 유동학적 성질²⁶⁾ 즉 겔 보기 점성도(η_{app} , 전단응력/전단속도)의 평균값을 Table V에 나타내었고 외용제의 레오그램을 Figure 3에 표시하였다. UA 외용제의 유동성은 비뉴턴계 중에 원점을 통과하면서 거의 직선성이 없는 유사소성 흐름을 나타내었으며 모든 처방의 레오그램은 상향곡선의 모양이 부푼듯한 곡선(bilged curve)을 형성하였고, 하향곡선이 상향곡선의 좌측으로 이동되어 이력고리를 형성하여 모두 요변성을 가지고 있는 것을 확인하였으므로 제제의 물리적 안정성이 좋을 것이라는 것을 예측할 수 있다.

분산 기체에 사용된 겔을 잔탄 검과 poloxamer 407을 혼합하여 사용한 처방 C와 F에서 더 높은 점도를 나타내었으며 보습제로 글리세린의 양을 줄이고 프로필렌 글리콜을 사용하면 점도가 더 낮게 나타났다(처방 D). 또한 지질로 cerix-5를 사용하는 처방(A)보다 PC를 사용한 처방(G)에서 점도가 높게 나타났고, 글리세린의 양을 줄이고 바셀린의 양을 늘린 처방(E와 F)에서 점도가 높게 나타났다.

UA 외용제의 보습효능 평가

건조감량 평가- 피부 송달 외용제 개발을 위한 제제 설계에서 보습 효능을 향상시키기 위해 첨가제들을 사용하여 수분의 건조감량을 측정하여 보습 효능을 평가값을 Figure 4에 나타내었다. 120분 후에 polymer에 따라 수분 증발율을 비교하였을 때 잔탄검만을 사용한 처방 A는 61.06%, poloxamer 407을 사용한 처방 B는 43.07%, 두가지를 혼합

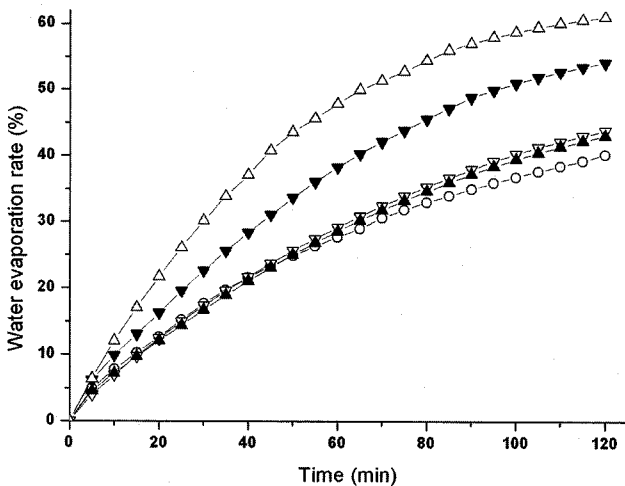


Figure 4-Water evaporation rate of UA topical formulations. Key : Δ - Formulation A, \blacktriangle - Formulation B, ∇ - Formulation C, \blacktriangledown - Formulation D, \circ - Formulation E.

한 처방 C는 43.80%로 나타났다. 또한 처방 D와 E는 각각 54.19, 40.22%를 나타내었다. 이처럼 제제에 따라 수분증발률이 다르게 나타난 것은 각 제제의 점도의 차이에 그 원인이 있는것으로 생각된다. 겔과 같은 반고형제제에서는 제제의 점도가 높아질수록 제제로부터 약물의 방출 속도가 지연된다는 결과가 보고되어 있다.²⁷⁾ 따라서 제제의 점도가 높을수록 제제로부터 수분의 증발이 저해된 것으로 생각된다.

하지만 처방 D의 경우 점도가 1068 ± 44 cps로 가장 낮게 나타났지만 수분 증발률은 54.19%로 처방 A의 61.06% 보다 낮은 수분 증발률을 나타낸 것은 프로필렌 글리콜의 증가로 인한 영향으로 생각된다.

단기 보습능 시험-Figure 5는 각 제제들을 인체에 도포하

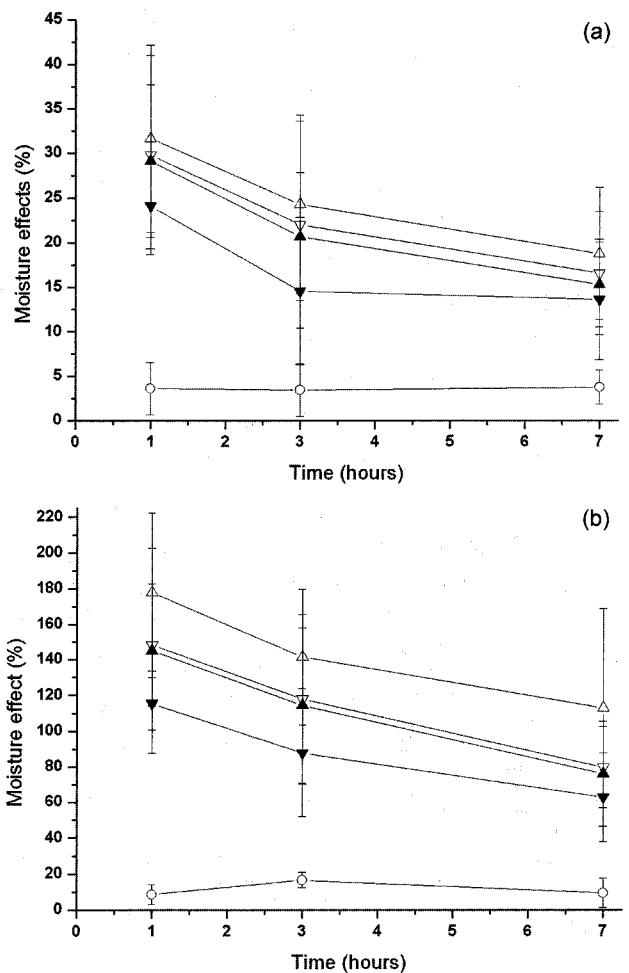


Figure 5-Short term moisture effects using Corneometer and Skicon (mean \pm S.D, n=3). Key : (a) Corneometer, \circ - Control, Δ - Formulation A, \blacktriangle - Formulation B, ∇ - Formulation C, \blacktriangledown - Formulation D and (b) Skicon, \circ - Control, Δ - Formulation A, \blacktriangle - Formulation B, ∇ - Formulation C, \blacktriangledown - Formulation D.

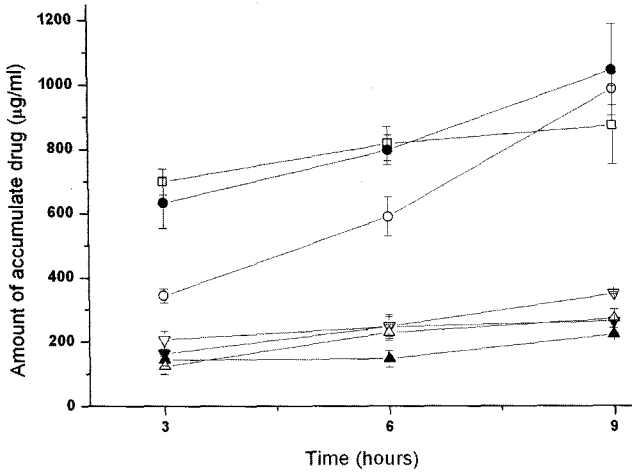


Figure 6—Permeation profiles of accumulated UA through excised hairless mouse skins from various UA topical formulations (mean±S.D, n=3).
Key : -△- Formulation A, -▲- Formulation B, -▽- Formulation C, -▼- Formulation D, -○- Formulation E, -●- Formulation F, -□- Formulation G.

고 Corneometer와 Skicon을 사용하여 보습능을 측정된 결과이다. 제제를 도포하고 1시간 후 보습효과는 처방 A에서 가장 높게 나타났으며 7시간 이후에도 다른 처방에 비해 높게 유지되었다. 이 때 시료를 도포하지 않은 control 부위에 보습력의 차는 실험 시작부터 끝날 때까지 큰 변화를 보이고 있지 않아 본 실험의 환경적 영향은 매우 적은 것으로 나타났으며 두 기기의 결과가 비슷한 양상을 띠고 있어 측정기에 의한 영향도 크지 않은 것으로 사료된다.

UA 외용제의 피부내 약물침적 시험

피부내 약물의 침적량은 Figure 6에 나타내었다. Poloxamer 407과 잔탄 겔의 영향을 평가하였을 때 처방 A, B 및 C에서 3, 6 및 9시간후의 피부 침적량은 각각 122.9, 144.6 및 205.6, 227.7, 146.2 및 247.2 그리고 271.4, 221.7 및 349.2 µg/g이었으며 잔탄 겔은 초기에는 낮은 침적량을 보이지만 시간이 지남에 따라 단독으로 사용시 더 많은 양이 침적되었다.

글리세린의 농도를 줄이고 프로필렌 글리콜을 늘인 처방 D에서 피부 침적량은 3, 6 및 9시간에 162.6, 246.0 및 263.2 µg/g으로서 처방 A에 비해 9시간 이후에는 유의성 있는 차이를 나타내지 않지만 3과 6시간에는 더 높았다. 이는 친수성 기제인 프로필렌 글리콜이 흡수촉진제로의 작용 때문인 것으로 사료된다.²⁸⁾

일반적으로 지질은 각질층의 구조를 흐트러트려 세포내로 약물의 흡수를 촉진시킨다는 결과가 보고되어 있다.^{29,30)} 따

라서 이 연구에서는 이러한 흡수촉진제의 역할을 하는 지질로 Cerix-5와 PC를 적용하고 그 영향을 비교해 보았다. 그 결과 지질의 종류에 따른 피부 침적을 비교하였을 때 3, 6 및 9시간 모두에서 Cerix-5를 사용한 처방 A보다 PC를 사용한 처방 G가 높은 침적량을 나타내었다.

UA 외용제의 단기 안정성

UA 외용제의 25와 40°C에서 안정성을 평가한 결과를 Figure 7에 나타내었다. 즉 25와 40°C에서 처방 A, B 및 C 모두 30일에서 약물 잔존율은 모두 90%이상이었으므로 안정성을 확보하기 위해 EDTA-2Na와 항산화제로 ascorbic acid palmitate를 첨가하여 시험한 결과 제조된 UA 외용제는 안정성이 우수한 것으로 평가되었다.

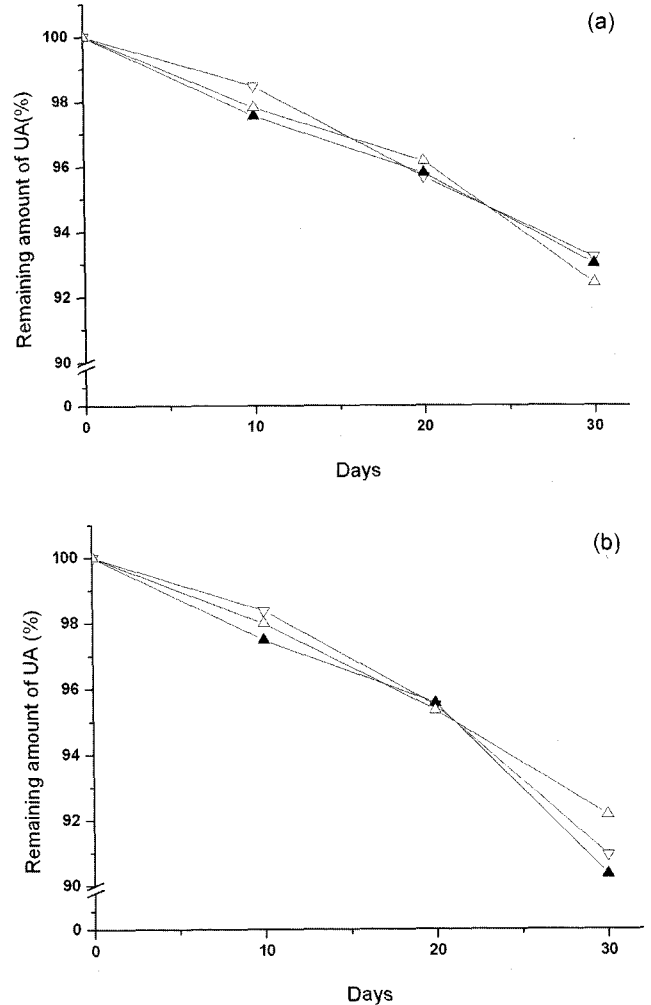


Figure 7—Stability of UA topical formulations at 25 and 40°C.
Key : (a) 25°C -△- Formulation A, -▲- Formulation B, -▽- Formulation C and (b) 40°C -△- Formulation A, -▲- Formulation B, -▽- Formulation C.

결 론

난용성 물질인 UA의 피부적용 나노입자수송시스템을 설계하기 위하여 용해도를 측정하여 이 결과를 이용하여 24시간 이후에도 침전이 형성되지 않는 안정한 영역의 마이크로에멀전을 벤질 알코올을 용매로, 에탄올을 용해보조제로 3종류의 계면활성제를 사용하여 제조하여 이를 바탕으로 피부에 표적화할 수 있는 외용 제제를 제제 설계한 후 점도, 피부침적 시험 및 단기 안정성을 시험하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. UA의 용해도는 벤질 알코올에서 32.67, 에탄올에서 3.54, 프로필렌글리콜에서 2.48, 1,3-부틸렌 글리콜에서 2.83, Transcutol CG에서 4.27 mg/ml이었다.

2. 마이크로에멀전의 입도분포는 Cremophor EL로 처방한 II에서 입자도가 26.8 ± 6.6 nm로 가장 작았다.

3. UA 외용제는 모두 요변성을 보이는 유사소성 흐름을 나타내었고 점도는 폴리머, 보습제 및 지질의 종류와 양에 의해 영향을 받았다.

4. 수분 증발율은 poloxamer 407과 프로필렌 글리콜을 사용하는 처방에서 낮았으며 특히, 바셀린을 첨가한 E 제제가 40.22%로 매우 낮았다. 보습 효능은 잔탄 검을 사용한 처방 A가 지속적으로 높게 나타났으나 처방 D는 낮아 글리세린의 보습력이 높은 것으로 나타났다.

5. UA 외용제의 피부 침적 실험의 결과 분산기제로 잔탄 검과 poloxamer 407을 혼합하여 사용하고 바셀린과 PC를 사용한 제제의 침적량이 유의성 있게 높게 나타났다.

6. EDTA-2Na와 ascorbic acid palmitate를 첨가하여 제조된 UA 외용제는 안정성이 우수하였다.

이상의 결과를 바탕으로 폴리머로 잔탄 검을 보습제로 글리세린을 지질로 PC를 사용하여 적당한 비율로 제제설계한 나노입자수송시스템을 이용한 UA 피부적용제제로써 피부노화 방지 및 주름개선 효과의 피부적용제제로서의 개발가능성을 보여주었다.

참고 문헌

- 1) J. Liu, Pharmacology of oleanolic and ursolic acid, *J. Ethnopharmacol.*, **49**, 57-68 (1995).
- 2) T. Mezzetti, G. Orzalesi and V. Bellavita, Chemistry of ursolic acid, *Planta Medica*, **20**, 244-252 (1971).
- 3) B. Paul, *Encyclopedia of emulsion technology* 3, Marcel Dekker, New York, pp. 137 (1998).
- 4) L.M. Prince, *Microemulsions-Theory and Particle*, Academic Press, New York, pp. 1 (1997).
- 5) G.W. Halbert, J.B. Stuart and A.T. Fluorence, The incorporation of lipid soluble antineoplastic agents into microemulsions protein-free analogues of low density lipoprotein, *Int. J. Pharm.*, **21**, 219-232 (1984).
- 6) M. Gallarate, M.R. Gasco and M. Trotta, Influence of octanoic acid on membrane permeability of timolol from solutions and from o/w microemulsions, *Acta. Pharm. Technol.*, **34**, 102 (1998).
- 7) D.W. Osborne, A.J. Ward and K.J.O. Neil, Microemulsion as topical drug delivery vehicles, Characterization of a model system, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **14**, 1203 (1998).
- 8) D.W. Osborne, A.J. Ward and K.J.O. Neil, Microemulsion as topical drug delivery vehicles : *in-vitro* transdermal studies of a model hydrophobic drug, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 451 (1991).
- 9) J.M. Sarciaux, L. Acar and P.A. Sado, Invited Review : Using microemulsion formulations for oral drug delivery of therapeutic peptides, *Int. J. Pharm.*, **120**, 127-136 (1995).
- 10) M. Jumaa and B.W. Müller, The stabilization of parenteral fat emulsion using non-ionic ABA copolymer surfactant, *Int. J. Pharm.*, **174**, 29-37 (1998).
- 11) C. Malcolmson and M.J. Lawrence, A comparison between nonionic micelles and microemulsions as a means of incorporating the poorly water soluble drug, *J. Pharm. Pharmacol.*, **42**(suppl.), 6 (1990).
- 12) C. Malcolmson and M.J. Lawrence : A comparison of the incorporation of model steroids into non-ionic micellar and microemulsions, *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 141-143 (1993).
- 13) C.A.T. Laia, W. Brown, M. Almgren and S.M.B. Costa, Light scattering study of water-in-oil AOT microemulsions with poly(oxy)ethylene, *Langmuir*, **16**, 465-470 (2000).
- 14) D. Lehner, H. Lindner and O. Glatter, Determination of the translational and rotational diffusion coefficients of rodlike particles using depolarized dynamic light scattering, *Langmuir*, **16**, 1689-1695 (2000).
- 15) M.D. Vlachou, D.M. Rekkas, P.P. Dallas and N.H. Choulis, Development of and *in vitro* evaluation of griseofulvin gels using Franz cells, *Int. J. Pharm.*, **82**, 47-52 (1992).
- 16) M.M.J. Soriano, M.J.F. Contreras and E.S. Flores, Development of a cream from a self-emulsifying base and moisturizing actives, *Il Farmaco*, **56**, 513-522 (2001).
- 17) J. Moss, The effect of 3 moisturizers on skin surface hydration. Electrical conductance (Skicon-200), capacitance (Corneometer CM420), and transepidermal water loss (TEWL), *Skin Res. Technol.*, **2**, 32-36 (1996).
- 18) M. Lodén, E. Hagforsen and M. Lindberg, The presence of body hair influences the measurement of skin hydration with the corneometer, *Acta Derm. Venereol. (Stockh.)*, **75**, 449-450 (1995).
- 19) E. Berardesca and G. Borroni, Instrumental evaluation of cutaneous hydration, *Clinics in Dermatology*, **13**, 323-327 (1995).
- 20) S.X. Chen and R.T. Lostritto, Diffusion of benzocaine in poly(ethylene-vinyl acetate) membranes : Effects of vehicle

- ethanol concentration and membrane vinyl acetate content, *J Controlled Release*, **38**, 185-191 (1996)
- 21) B. Herculín, M. Delaunay-Vantrou, F. Alamichel, M. Mazza and J.P. Marty, Pharmacokinetic of cutaneous sulconazole nitrate in the hairless rat: absorption, excretion, tissue concentration, *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **18**, 149-154 (1993).
 - 22) E.J. Benjamin, M. Lee, J. Tom, L.Y. Lin, M. Henesian and D. Wu, Stabilization of sulconazole nitrate in a topical powder formulation, *Int. J. Pharm.*, **14**, 209-221 (1983).
 - 23) K.M. Go, J.S. Koo, Y.L. Kim and J.H. Yang, Preparation and stability of sodium alginate beads containing β -carotene, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **29**, 323-327 (1999).
 - 24) H.S. Gwak, H.W. Ki and I.K. Chun, Solubility and physicochemical stability of quercetin in various vehicles, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **34**, 29-34 (2004).
 - 25) T.J. Whall and J. Dokladalova, High-performance liquid chromatographic of (Z)- and (E)- doxepin hydrochloride isomers, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1454-1454 (1979).
 - 26) W.J. Dixon, The up and down methods for small samples, *J. Am. Stat. Assoc.*, **60**, 967-978 (1965).
 - 27) E.J. Ricci, L.O. Lunardi, D.M.A. Nanclares and J.M. Marchetti, Sustained release of lidocaine from poloxamer 407 gels, *Int. J. Pharm.*, **288**, 235-244 (2005).
 - 28) L.B. Lopes, J.H. Collett, M. Vitoria and L.B. Bentley, Topical delivery of cyclosporine A : an in vitro study using monoolein as a penetration enhancer, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **60**, 25-30 (2005).
 - 29) B.W. Barry, Lipid-protein-partitioning theory of skin penetration enhancement, *J. Controlled Release*, **15**, 237-248 (1991).
 - 30) G. Betz, A. Aepli, N. Menshutina and H. Leuenberger, In vivo comparison of various liposome formulations for cosmetic application, *Int. J. Pharm.*, **296**, 44-54 (2005).