

Intense Pulsed Light(IPL)를 이용한 알부틴의 경피 흡수 개선

최준호 · 정석재 · 심창구 · 김대덕[†]

서울대학교 약학대학

(2009년 3월 25일 접수 · 2009년 4월 3일 수정 · 2009년 4월 10일 승인)

Enhanced Topical Delivery of Arbutin using Intense Pulsed Light (IPL)

Joon-Ho Choi, Suk-Jae Chung, Chang-Koo Shim and Dae-Duk Kim[†]

College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Sciences,
Seoul National University, Seoul, 151-742, Korea

(Received March 25, 2009 · Revised April 3, 2009 · Accepted April 10, 2009)

ABSTRACT – The objective of this study was to investigate the feasibility of applying the Intense Pulsed Light (IPL) as a tool to enhance the skin absorption of arbutin, a well-known skin-whitening agent. Arbutin solution or skin formulation was applied on the back of hairless mouse skin *in vivo* after IPL treatment, and then the skin deposition of arbutin was determined by HPLC. IPL treatment significantly increased the amount of arbutin in the skin after 6 hours when arbutin solution was applied 20 times. IPL also enhanced the skin deposition of arbutin when arbutin formulation was applied, although it was not significantly different. Significant increase of surface skin temperature was observed by IPL treatment, which might be a mechanism of the enhanced skin absorption of arbutin. These results suggest the feasibility of using IPL as a tool to increase the skin absorption of whitening agents, although further research needs to be conducted to understand its exact mechanism.

Key words – Arbutin, Topical delivery, Intense Pulsed Light (IPL)

알부틴(arbutin, hydroquinone-D-glucopyranside)은 glycosylated hydroquinone 체로서 블루베리(*Vaccinium spp.*)와 같은 식물에 고농도로 존재하는 미백물질로 알려져 있다.¹⁾ 주작용 기전은 피부의 tyrosinase 활성 억제와 멜라닌 색소의 형성 억제 등이라는 것이 밝혀진 바 있다. 그러나 이러한 미백물질이 작용하기 위해서는 피부의 표피 아래층에 있는 melanocyte 까지 도달해야 하는데, 알부틴이 매우 친수성이므로 (logP=-1.49) 단순한 로션 제제로는 알부틴이 소수성인 각질층을 통과하여 melanocyte에서의 미백효과를 기대하기가 매우 어려운 것으로 알려져 있다.

경피 흡수가 어려운 물성을 가진 약물에 대한 흡수 개선 연구가 지난 수 년 동안 활발하게 진행되고 있다. 주로, 각질층의 장벽기능을 감소시켜주는 용매, 계면 활성제, 알콜류와 같은 경피흡수 촉진제를 이용하거나 물리적 인자인 전류, 초음파 등을 적용하는 방법이 연구되고 있다.²⁾ 특히, 직류 전류를 적용하여 전하를 띤 약물분자의 피부투과를 촉진하는

iontophoresis와³⁾ 고전압 맥동 전류를 적용하여 형성되는 일시적인 미세 구멍을 통해 약물의 투과를 촉진시키는 eletrophoration⁴⁾에 관한 많은 연구가 진행되어 그 효능이 밝혀진 바 있다. 그러나, iontophoresis와 같은 전류를 피부에 적용하면 pH의 변화와 전류 밀도의 증가로 인하여 피부 화상을 유발시킬 우려가 있는 단점이 있다⁵⁾. 이에 반하여, 초음파를 피부에 적용하여 약물 또는 피부에 압력을 가하고, 수용체의 용액-막 전위 에너지 장벽을 감소시킴으로써 피부 투과를 증가시키는 phonophoresis에 대한 연구도 많이 보고되어 있다.⁶⁾ 이러한 phonophoresis는 피부화상에 대한 위험이 적으며, iontophoresis와 달리 약물의 이온화가 필요하지 않아 적용약물의 범위가 넓고, 투과 깊이가 약 5 cm 정도로서 iontophoresis에 비하여 낮으므로 안전하며, 치료 시 적용 시간이 짧아 임상적용이 용이한 것이 장점이다.^{7,8)} 이와 같이, 피부에 대한 부작용이 적으면서 피부 투과 흡수 증진능력이 뛰어난 물리적인 촉진 방법을 모색하는 연구가 많이 진행되고 있다.

Intense pulsed light(IPL)은 전류나 초음파를 이용하는 것과 같은 물리적인 요법 중의 하나로서 xenon lamp를 이용

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)880-7870, E-mail : ddkim@snu.ac.kr

한 다파장(400~1200 nm) 광선을 피부에 조사하는 치료기로써 피부과 영역에서 크게 3가지 분야에서 사용되고 있다. (1) 모낭 기질에 있는 멜라닌을 target chromophore 로 하여 600~950 nm 의 파장 대역을 사용하여 치료하게 되는 제모 영역,⁹⁾ (2) 혈관 내부에 있는 (oxy)hemoglobin 을 target chromophore 로 하여 550~950 nm 의 파장대역을 사용하여 치료하게 되는 홍조 영역,^{10,11)} 그리고 (3) 표피 멜라닌 세포성 병변에 있는 멜라닌을 target chromophore 로 하여 400~700nm 의 파장 대역을 사용하여 치료하게 되는 표피 멜라닌 세포성 병변의 치료 영역이다.^{12,13)} 본 연구에서는 IPL의 피부 흡수 촉진 효과를 새롭게 연구하기 위하여 알부틴을 모델 물질로 선정하였고 IPL에 의한 알부틴의 투과 촉진 양상을 hairless mouse를 사용하여 *in vivo* 조건에서 체계적으로 관찰하였다.

실험방법

시약 및 기기

알부틴 표준품은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 피부에 적용하기 위한 알부틴 제제는 CNS(주)에서 공급받은 조성을 사용하였다. HPLC용 methanol과 acetonitrile은 Merck (Darmstadt, FRG)에서 구입한 후 0.2 µm 필터로 여과하고 사용하였다.

광선조사기는 CNS(주)에서 공급받은 광선조사기(CNS Eosika-IPL, Seongnam, Korea)를 사용하였고, 피부의 온도를 측정하기 위해 infrared thermometer (JT520C, Hansung, Korea)를 사용하였다.

실험동물

Hairless mouse (웅성, 25±5 g, Charles River Lab., USA)를 사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하며 일주일간 안정화시킨 후 사용하였다.

IPL 조사 방법

IPL의 피부 조사는 Crisscross 법에 따라 진행하였다.¹⁴⁾ Hairless mouse의 사지를 실험대에 결찰하고 에테르로 가볍게 마취시켰다. IPL의 핸드피스를 피부에 접촉하기 전에 조사 부위의 피부를 항상 가능한 넓게 피주었다. IPL의 조사 면적은 1.5 cm×2.0 cm 이었으며, 파장은 450 nm~1100 nm, 펄스 간격은 최소 900 msec, pulse duration은 3.5 msec, energy fluence는 12 J/cm²로 고정하였다. 피부가 약간 붉은기를 띠는 때까지만 충분한 에너지를 조사하기 위하여 조사시간은 8초 동안 10번 연속 조사하는 과정을 두 번 반복하였다.

IPL 조사 후 Hairless mouse 의 피부표면 온도 측정

IPL의 작용기전을 이해하기 위해, IPL을 조사하기 전과 10회 혹은 20회 조사 한 후에 hairless mouse의 피부표면 온도를 infrared thermometer를 이용하여 측정하였다. 마우스의 등 피부에 적외선을 쬐어 나타나는 표면 온도값이 일정해질 때를 측정하였다. 정확한 측정을 위해 세 번 반복한 평균값을 각 마우스의 표면온도로 하였다. Infrared thermometer의 측정한계는 -18°C~500°C 이었다.

In vivo skin deposition of arbutin

IPL을 20회 조사한 후, 0.3 mL의 알부틴 용액 혹은 알부틴 제제를 결찰시킨 hairless mouse의 등쪽 피부에 일정 면적(3.0 cm²=1.5 cm×2.0 cm) 범위에 골고루 적용하였다. 예비실험 결과, 알부틴 제제 중의 함량은 19.36±1.40 mg/mL이었으므로, 대조군으로 사용한 알부틴의 PBS 용액 중의 농도를 이와 동일하게 하였다. 일정시간 간격으로 경추탈골 시킨 후 마우스의 피부를 분리하고, 알부틴을 적용한 부위를 잘라낸 후 신속하게 PBS(pH 7.4)로 washing과 rinsing을 반복하여 피부에 남은 잔류물을 제거해주었다. 이 후 cotton swab으로 피부 표면을 건조시켰다.

피부의 각질층을 cellophane adhesive tape(CuDerm corporation, Dallas, USA)으로 20회 stripping한 후,¹⁵⁾ 이 tape를 메탄올(10mL)에 녹여 상온에서 밤새 추출(2000 rpm)하여 각질층에 남아 있는 알부틴의 양을 HPLC로 분석하였다. Stripping 하고 남은 표피 및 진피층은 잘게 자른 후 메탄올(3 mL)을 가하고 homogenizer (ULTRA-TURAX® T25 basic, IKA, Staufen, Germany)를 이용하여 분쇄하였다. 원심분리(3000 rpm, 5 min)하여 상등액에 남은 알부틴 양을 HPLC로 분석하였다.

알부틴의 정량

제제 및 피부 중에 함유되어 있는 알부틴의 정량은 HPLC를 이용하였다. Binary pump (Waters 515 HPLC Pump)와 auto-injector (Waters 717 plus Auto-sampler), UV-VIS detector (Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector)를 갖춘 Waters HPLC를 사용하였다.

고정상으로는 Merck RP-8 column (LiChroCART, 5 µm, 250×4 mm, Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였고, 이동상으로는 Methanol 과 water 의 15:85 혼합액을 사용하였다. 검출 파장은 280 nm, 유속은 0.7 mL/min으로 하였으며, 20 µL의 시료를 injection 하였고, 이 때 retention time 은 6.2 min 이었다.

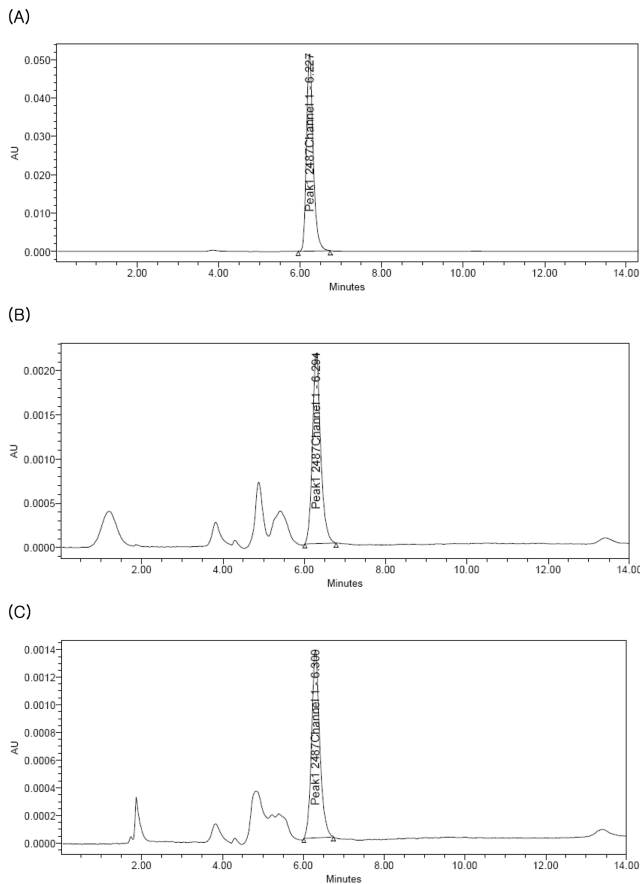


Figure 1—HPLC Chromatograms of arbutin (A) in the solution, (B) in the stratum corneum layer and (C) in the epidermis/dermis.

통계 처리

모든 데이터는 mean±standard deviation (S.D.) 형식으로 나타내었으며, 알부틴 용액과 알부틴 제제의 비교를 위해서 Student's t-test를 이용하였다. 통계적으로 유의한 차이는 p-value가 0.05이하일 때를 기준으로 하였다.

결과 및 고찰

알부틴의 분석

HPLC의 UV 검출 파장을 280 nm로 하였을 때, 알부틴은 방해 피크 없이 양호한 분리도를 보였으며 검량선은 0.5~100 µg/mL 범위에서 양호한 직선성($y=9197.4x-1081.5$, $r^2=0.9997$)을 보였다. CNS(주)에서 제공받은 알부틴 제제 (Figure 1A), 피부의 각질 (Figure 1B) 및 표피/진피층 (Figure 1C) 중의 알부틴 또한 같은 시간에서 검출되었으며 (6.2 min), 방해 피크 없이 분리가 잘 되었다.

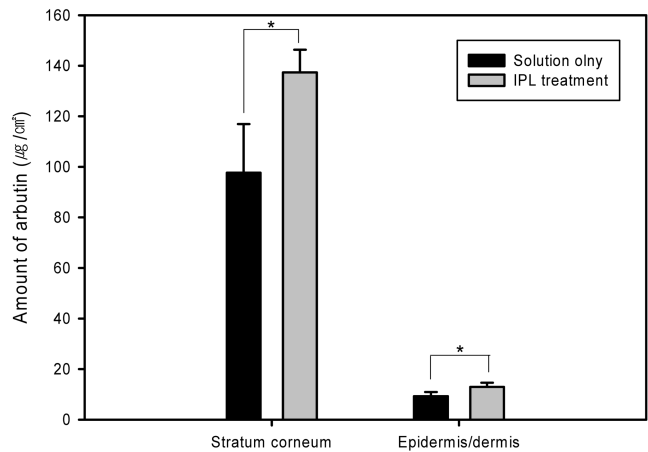


Figure 2—Deposition of arbutin in the stratum corneum layer and the epidermis/dermis layers at 6 hours after applying arbutin solution on the hairless mouse skin *in vivo*. Each data represents the mean ± S.D. (n=5). *: Significantly different from the control (without IPL treatment, $p < 0.05$).

In vivo skin deposition studies of arbutin

IPL 조사가 끝난 후 미백 물질이 실제로 작용하기 위해서는 피부의 각질을 통과하여 진피층의 melanocyte 까지 도달하여야 하므로 시간에 따라 실제로 피부에 흡수된 알부틴의 양을 정량적으로 측정할 필요가 있다. IPL을 20회 조사한 후, 알부틴 용액을 피부에 도포하고 6시간 경과한 뒤에 각질층 및 표피/진피층에 남아 있는 알부틴의 양을 Figure 2에 나타내었다. IPL을 조사하지 않고 알부틴 용액을 도포한 대조군에 비하여 IPL을 조사한 그룹에서 알부틴의 deposition이 통계학적으로 유의성 있게 높은 것을 알 수 있었다 ($p < 0.05$). 따라서, IPL의 조사에 의해 알부틴의 각질층으로의 분배가 증가하였고, 이로 인해 표피/진피층으로의 흡수도 함께 증가한 것으로 생각되어 진다.

IPL을 20회 조사한 후 실제 화장품으로 쓰이는 알부틴 함유 제제를 피부에 도포하고 시간에 따라 피부에 흡수되는 알부틴 양을 측정한 결과는 Figure 3과 같았다. IPL을 조사하지 않고 알부틴 함유 제제를 피부에 도포한 control group과 비교하였을 때, 각질층 중의 알부틴의 침적량은 2시간 및 4시간 후에는 유의성 있는 차이가 없었으나, 6시간 후에는 IPL을 조사한 그룹에서 통계적으로 유의성 있게 알부틴 침적량이 더 높았다 (Figure 3A). 반면, 표피 및 진피층의 침적량 비교에서는 IPL을 조사한 그룹이 대체로 높은 경향이 있었으나, 통계적으로 유의성 있는 차이를 보이지는 않았다 (Figure 3B). 이러한 결과는 알부틴을 PBS 용액에 녹여서 피부에 적용한 Figure 2의 결과와도 대체로 일치하는 것으로서, 알부틴을 로션과 같은 제제로 만들었을 경우에도 IPL을

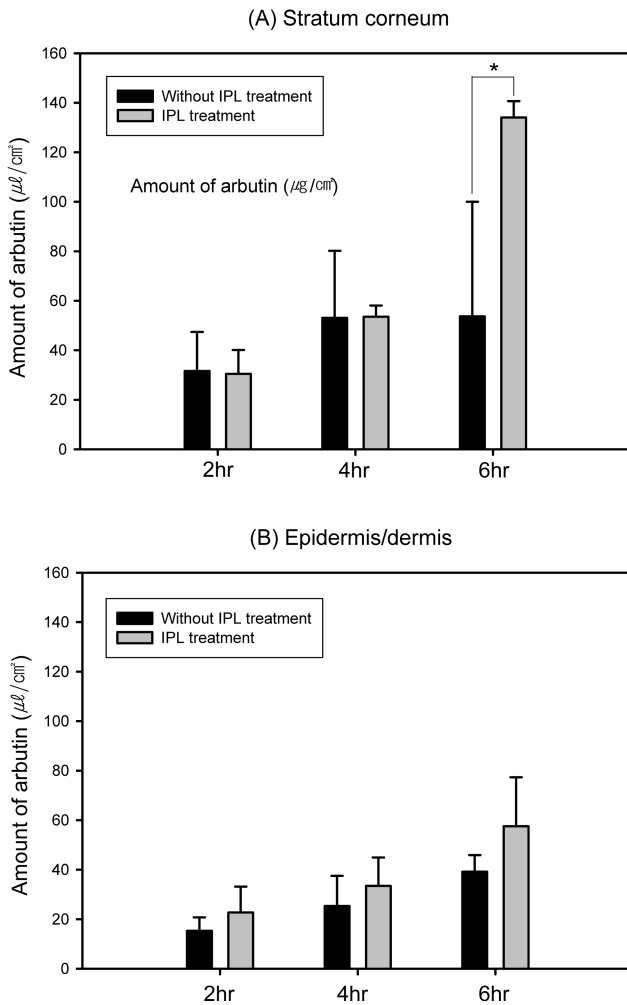


Figure 3—Deposition of arbutin (A) in the stratum corneum layer and (B) in the epidermis/dermis layers at 2, 4 and 6 hours after applying arbutin formulation on the hairless mouse skin *in vivo*. Each data represents the mean ± S.D. (n=5). *: Significantly different from the control (without IPL treatment, p<0.05).

조사하였을 때 피부 흡수가 증진되었다는 것을 알 수 있다.

Effect of IPL irradiation on the skin temperature

IPL 조사에 의한 알부틴의 피부 흡수 증진 기전을 이해하기 위해 IPL 적용에 따른 피부 표면 온도 변화를 측정된 결과는 Figure 4와 같았다. IPL의 조사를 10번 한 경우, 약간의 피부 온도 상승이 관찰되었지만 유의성은 없었으나, 20번의 조사에 의해 피부 온도가 유의성 있게 상승하였음을 알 수 있었다. 서론에서 언급한 바와 같이, 현재 IPL의 주된 사용 목적은 물질의 피부내 흡수를 증진시키는 것이 아니라 피부 병변 등을 치료하는 것에 있다. 또한, IPL의 치료 메커니즘은 현재 명확히 밝혀있지 않았고 여러 가능한 이론이 알려져 있으나, 진피 안쪽으로 빛을 조사하여 발생하는 열에

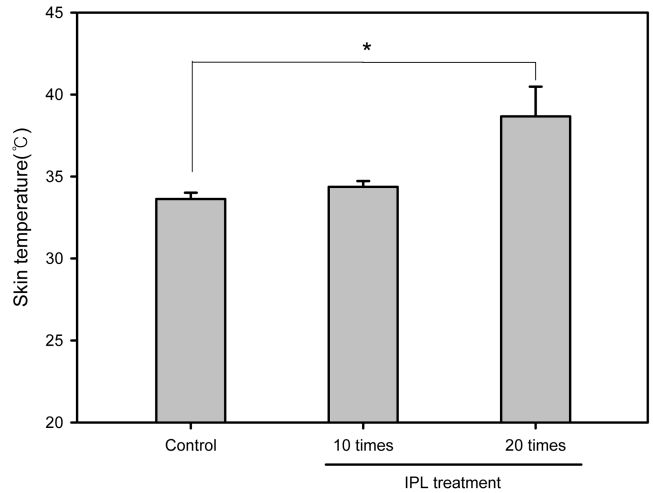


Figure 4—Surface temperature of hairless mouse skin after applying IPL 10 times or 20 times. Each data point represents the mean ± S.D. (n=3). *: Significantly different from the temperature before IPL (p<0.05).

의해 피부 질환을 치료해 준다는 이론이 정설이다.¹⁶⁾ 따라서, IPL 조사에 의한 알부틴의 피부 흡수 증진 메커니즘 또한 이와 같은 원리로 생각해 볼 수 있다. 더욱이, 피부의 온도가 상승함에 따라 cholinesterase inhibitor VX의 피부 흡수가 증진된다는 이전의 보고와도 일치한다.¹⁷⁾

결 론

알부틴이 탈색소 효과를 나타내는 기전은 표피 및 진피 층 경계에 존재하는 melanocyte에서 tyrosinase를 저해하는 것이다. 따라서 알부틴이 미백효과를 나타내기 위해서는 각질층을 투과하여 유효한 농도로 멜라닌 세포까지 도달하는 것이 중요하다. 피부 침적 실험결과, IPL의 조사에 의해 알부틴의 피부내 흡수가 증가하였으며, 이는 피부 온도의 상승이 한 원인으로 작용함을 알 수 있었다. 따라서, IPL은 유효성분의 피부흡수를 증진시킬 수 있는 도구로 응용이 가능할 것으로 보인다. 그러나, 피부 표면온도 상승 및 각질층 손상 등의 피부 자극에 대한 체계적인 연구가 선행되어야 할 것으로 생각한다.

참고문헌

- 1) D.K. Hinch, A.E. Oliver and J.H. Crowe, Lipid composition determines the effects of arbutin on the stability of membranes, *Biophysical J.*, **77**, 2024-2034 (1999).
- 2) C.S. Yong, J.D. Rhee and H.G. Choi, Factors affecting percutaneous absorption, *The J.S.B.R.*, **2**, 49-67 (2000).

- 3) J.E. Riviere and M.C. Heit, Electrically-assisted transdermal drug delivery, *Pharm. Res.*, **14**, 687-697 (1997).
- 4) R.H. Guy and J. Hadgraft, *Transdermal Drug Delivery*, Marcel Dekker, New York, U.S.A, 59-81 (1989).
- 5) H.A. Ahn, Transdermal delivery of cationic drug, isopropamide through rat skin by iontophoresis, *Thesis of Pharm. Seoul Nati. Univ.*, (1991).
- 6) P. Tyle and P. Agrawala, Drug delivery by phonophoresis, *Pharmaceutical Research*, **6**, 355-359 (1989).
- 7) S. Mitragotri, D. Blankshtein and R. langer, Transdermal drug delivery using low-frequency sonophoresis, *Pharm. Res.*, **13**, 411-420 (1996).
- 8) D. Bommannan, H. Okuyama, P. Stauffer and R.H. Guy, Sonophoresis. I. The use of high-frequency ultrasound to enhance transdermal drug delivery, *Pharm. Res.*, **9**, 559-564 (1992).
- 9) C. RaulinRaulin, S. Werner, W. Hartschuh and M.P. Schonemark, Effective treatment of hypertrichosis with pulsed light : a report of two cases, *Ann. Plast. Surg.*, **39**, 169-173 (1997).
- 10) C.A. Schroeter and H.A. Neumann, An intense light source. The Photoderm VL-flashlamp as a new treatment possibility for vascular skin lesions, *Dermatol. Surg.*, **24**, 743-748 (1998).
- 11) M.P. Goldman, Treatment of benign vascular lesions with the Photoderm VL high-intensity pulsed light source, *Adv. Dermatol.*, **13**, 503-521 (1997).
- 12) M.H. Gold, T.D. Foster and M.W. Bell, Nevus spilus successfully treated with an intense pulsed light source, *Dermatol. Surg.*, **25**, 254-255 (1999).
- 13) G.A. Moreno Arias and J. Ferrando, Intense pulsed light for melanocytic lesions, *Dermatol. Surg.*, **27**, 397-400 (2001).
- 14) J.M. Yarborough, Dermabrasion by wire brush, *J. Dermatol. Surg. Oncol.*, **13**, 610-615 (1987).
- 15) H.M. Heise, L. Kupper and L.N. Butvina, Mid-infrared attenuated total reflection spectroscopy of human stratum corneum using a silver halide fiber probe of square cross-section and adhesive tape stripping, *J. Mol. Struct.*, **661**, 281-289 (2003).
- 16) B. Friedrich, D. Michael, H. Ulrich, K. Roland, K. Gerd, K. Wolfgang, L. Michael, N. Reinhard, R. Christian and S. Nikolaus, Recommendations for medical and aesthetic treatment of the skin using laser or intense pulsed light (IPL) systems, *Medical Laser Application*, **20**, 105-114 (2008).
- 17) F.N. Craig, E.G. Cummings and V.M. Sim, Environmental temperature and the percutaneous absorption of a cholinesterase inhibitor VX, *J. Invest. Dermatol.*, **68**, 357-361 (1977).