

## 용제와 투과촉진제가 Strat-M™ 인공막 및 무모마우스 피부를 통한 티자니딘염산염의 투과 특성에 미치는 영향

박명신 · 전인구<sup>#</sup>

동덕여자대학교 약학대학

(Received January 15, 2016; Revised February 18, 2016; Accepted February 19, 2016)

## Effects of Vehicles and Enhancers on the Permeation Properties of Tizanidine Hydrochloride through Strat-M™ Artificial Membrane and Hairless Mouse Skin

Myung Shin Park and In Koo Chun<sup>#</sup>

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea

**Abstract** — This study was aimed to enhance the percutaneous absorption of tizanidine hydrochloride (TZ) across Strat-M™ artificial membrane and excised hairless mouse skin using various vehicles and chemical permeation enhancers. Solubility studies were performed using hydrophilic and lipophilic vehicles. To initially evaluate vehicle effects on skin permeation, Strat-M™ membrane was adopted using Franz-type diffusion cells loaded with 0.4 mg donor dose. Effects of fatty acids on the permeation of TZ from PG and PGMC were compared, and the effects of various hydrophilic vehicles in the presence of linoleic acid were studied using excised hairless mouse skin specimens. The mean solubility (mg/ml) of TZ in hydrophilic vehicles was higher: water > PG > DMSO > ethanol > PEG 200 > NMP > PEG 300 > PEG 400 > DGME, and solubilities in lipophilic vehicles such as PGMC, PGMC, IPM, Captex 200 and Captex 300 were much less than 1.0 mg/ml. Permeation rates through Strat-M™ membrane from pure vehicles were in the rank order: PGMC ≥ LBF > DMSO ≥ NMP ≥ PGML ≥ PG ≥ PEG 200 ≥ DGME ≥ EtOH. However, permeation rates of TZ through hairless mouse skin from pure vehicles were very low, although PG showed the highest flux ( $1.66 \pm 0.28 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ ). Therefore, PG was selected in further studies. Addition of enhancers (3 v/v%) into PG markedly increased the flux ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ ): oleyl alcohol ( $14.9 \pm 3.1$ ) > oleic acid ( $14.5 \pm 1.6$ ) > linoleic acid ( $13.7 \pm 1.3$ ) > capric acid ( $4.4 \pm 0.6$ ) > caprylic acid ( $2.1 \pm 0.4$ ). Among hydrophilic vehicles with linoleic acid, PG and DMSO revealed relatively higher permeation for TZ. Increase of donor dose in PG resulted in dose-dependent permeation fluxes. These results suggest that permeation properties of TZ from nonaqueous solutions are markedly different between Strat-M™ membrane and excised hairless mouse skin, and transdermal delivery of TZ would be feasible with a combination of PG and enhancers.

**Keywords** □ tizanidine hydrochloride, solubility, permeation enhancement, Strat-M™ membrane, hairless mouse skin

티자니딘염산염(TZ, Fig. 1)은  $\alpha_2$ -수용체 작용제로서 1996년 미국 FDA에서 Zanaflex라는 상품명으로 승인을 얻은 약물이다. 이 약물의 투여제형으로는 과립제, 캡슐제, 정제가 시판되고 있으며, 근육경직, 경직성마비 등에 1회 1~2 mg을 6~8시간 간격으로 식후에 투여되고 1일 36 mg을 넘어서는 안 된다. TZ은

간에서 CYP1A2에 의해 대사되어 이 효소의 강력한 억제제인 플루복사민이나 시프로플록사신과 병용하는 경우 혈중농도가 높아

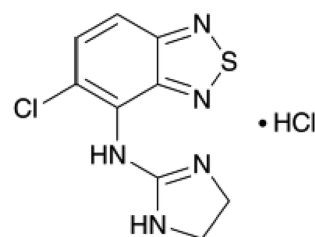


Fig. 1 – Chemical structure of tizanidine hydrochloride ( $\text{C}_9\text{H}_8\text{ClN}_5 \cdot \text{HCl}$ ; 290.17).

### <sup>#</sup>Corresponding Author

In Koo Chun

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea

Tel.: 02-940-4523 Fax.: 02-941-7652

E-mail: ikchun@dongduk.ac.kr

저 저혈압 등 이상약물반응이 증가할 수 있으므로 병용금지 약물로 되어 있다.<sup>1,2)</sup>

TZ은 간에서 초회통과효과를 받아 심하게 대사되며 생체이용률이 약 40%에 머물고 소실반감기는 2~4시간으로 짧아 자주 복용해야 하므로 복약순응성을 떨어뜨릴 수 있다. 또한 간 손상의 위험을 초래하여 투여 초기 1개월은 아미노기전이효소의 농도를 모니터링할 필요가 있으며, 음식물이나 병용약물에 의해 생체이용률이 변화되는 것으로 알려져 있다.<sup>3,7)</sup>

이러한 약동학적 특성으로 인하여 대체 투여경로로 구강, 비강 및 피부를 이용한 새로운 투여제형에 대한 연구가 보고되어 왔다. Shanker 등<sup>8)</sup>은 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스 및 이들의 혼합물과 투과촉진제로 시클로덱스트린류와 담즙산염을 이용하여 6시간까지 구강점막 투과를 지속할 수 있고 초회통과 효과를 회피할 수 있는 서방출성 구강점막부착 정제를 제조하였고, Vakhaova 등<sup>9)</sup>은 다발성 경화증 환자에서 야간에 설하정 투여가 경구용 정제 복용에 비해 경측 경감 효과를 현저히 증가시켰다고 하였다. Fendekal 등<sup>10)</sup>은 구강점막 부착형 패치에 착안하여 유드라짓류와 키토산을 이용하여 서방출 패치를 제조하고 8시간까지 TZ의 방출과 구강 점막투과가 이루어짐을 확인하였다. 폴리비닐알코올을 이용한 구강 점막 부착성 패치로부터 방출과 구강흡수 사이에 상관성이 있음도 제시되었다.<sup>11)</sup> 또 가교화된 키토산락테이트에 TZ을 배합하여 비드를 만들고 다시 웨이퍼 제형으로 변화시켜 구강 점막 부착성 제제를 제조하고 평가한 연구에서 8시간에 걸친 방출을 보였고 즉시방출 정제에 비해 상대생체이용률이 약 2.3배 증가하였다.<sup>12)</sup> Pulgamwar 등<sup>13)</sup>은 셀룰로오스계 고분자류, 카르보폴 및 포비돈을 이용한 구강 점막 부착형 패치를 제조하여 방출 특성을 보고하였다.

Patel 등<sup>14)</sup>은 티올화한 키토산에 수용성 약물인 TZ을 부하하여 나노입자를 제조하여 비강점막투과 증가, 세포독성 감소, 뇌흡수 증가와 통증완화를 보고하였다. 비강분무제가 초회 간대사의 회피와 신속한 약작용을 목적으로 검토되어 정제에 비해 생체이용률이 증가하였으며, 최고혈중농도 도달시간이 현저히 짧아졌음이 보고되었다.<sup>15)</sup>

TZ은 1일 경구 투여량이 염기로서 약 3~6 mg으로 적고, 염기의 분자량은 253.67로 분자량이 비교적 작으며, 옥탄올/인산염 완충액 분배계수가 2.66으로서 경피 시스템의 개발 가능성이 높으며 짧은 반감기로 인하여 빈번히 복용해야 하는 불편의 개선, 간독성 회피 등의 측면에서 경피 시스템의 설계에 관한 연구가 필요하다고 생각된다.

이러한 점에서 인산염완충액으로부터 TZ의 경피흡수 특성 검토, 경피흡수 촉진을 위한 화학적 투과촉진제류와 초음파의 병용,<sup>16)</sup> 인지질과 계면활성제를 이용한 탄성 소포체,<sup>17)</sup> 히드록시프로필메틸셀룰로오스와 포비돈을 이용한 필름형 패치,<sup>18)</sup> 인지질과 콜레스테롤 및 트리에틸시트레이트로 만든 에토솜 소포체를

부하한 히드록시프로필메틸셀룰로오스 필름형 패치,<sup>19)</sup> 유드라짓류와 키토산을 이용한 부착성 패치<sup>20)</sup> 등이 보고되었다. 그러나 경피흡수 패치를 설계하기 위해서는 일차적으로 약물을 녹일 수 있는 여러 비수성 용제들로부터 TZ의 피부 투과 특성을 이해하는 것이 중요하지만 이에 대한 검토는 별로 없다.

따라서 이 연구에서는 매트릭스 형 패치의 설계에 사용되는 여러 용제들 중 TZ의 용해성 및 용제와 지방산류 등이 피부 투과에 미치는 영향을 검토하였다. 또한 동물윤리로 인하여 대체 평가방법의 개발이 중요한 이슈로 대두됨에 따라 Strat-M™ 인공막<sup>21)</sup>과 무모마우스 적출 피부를 이용하여 TZ의 피부 투과 특성을 비교 검토하였다.

## 실험 방법

### 실험동물

적출 피부투과 시험에 사용한 실험동물로 무모마우스(7 주령, 체중 29~31 g, 수컷)을 오리엔트바이오(Sungnam-si, Kyunggi-do, Korea)에서 구입하였다. 구입 당일 에테르로 마취사시킨 후 등 피부를 적출하여 근육과 지방을 생리식염수로 처리한 김 와이프스로 제거하고 거즈와 포일로 봉하여 -20°C에 보관한 다음 1주 이내에 실온에서 해동하여 사용하였다.

### 재료 및 시약

피부 투과시험용 Strat-M™ 인공막(Transdermal Diffusion Test Model, 25 mm, SKBM 02560)은 EMD Millipore Bioscience(Billerica, MA, USA)의 것을 구입하여 썼다. TZ은 한국유나이티드제약(Sejong, Korea)에서 제공받은 제약금을 사용하였다. 친수용제로는 폴리에틸렌글리콜(PEG) 200, 300 및 400, 프로필렌글리콜(PG), N-메틸-2-피롤리돈(NMP, Junsei Chem. Co., Ltd., Tokyo, Japan), 디메틸설폭시드(DMSO, Kanto Chem. Co., Inc., Tokyo, Japan), 디에틸렌글리콜모노에틸에테르(DGME, Transcutol® P, Gattefossé, St-Priest, France)을 사용하였고, 유성용제인 프로필렌글리콜 디카프릴로카프레이트(LBF, Labrafac® PG), 프로필렌글리콜 모노카프릴레이트(PGMC, Capryol® 90), 프로필렌글리콜 모노라우레이트(PGML, Lauroglycol® 90)는 Gattefossé사(St-Priest, France)의 것을 제공받아 사용하였다. 프로필렌글리콜 디카프릴로카프레이트(Captex 200) 및 글리세릴 트리카프릴레이트/트리카프레이트(Captex 300)는 Abitec Corp. (Columbus, OH, USA)에서 제공받아 사용하였다. 이소프로필미리스테이트(IPM) 및 투과촉진제로 올레산(OA), 리놀레산(LOA), 카프르산(CA), 카프릴산(CLA), 올레일알코올(OAL), 내부표준물질로 에틸과라벤은 시그마알드리치(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 이동상으로는 HPLC급 메탄올과 아세토니트릴(Mallinckrodt Baker, Inc. Phillipsburg, NJ, USA)을 사용하였

고, 물은 정제수를 가지고 초순수제조장치(Human Power II+, Human Cooperation, Korea)를 통과시켜 18 M $\Omega$  이상인 것을 사용하였다. 기타 시약류는 시판 시약급을 사용하였다.

### 기기 및 장치

HPLC 장치는 펌프(PU-2080plus), 오토샘플러(AS-2051plus), 칼럼오븐(CO-2067plus), 자외선 검출기(UV-2075plus)로 구성된 Jasco사(Tokyo, Japan)의 것을 사용하였다. 항온진탕수욕장치(model 171-100)는 Karl Kolb사(Dreieich, Germany, 정밀도 0.2°C)의 것을 사용하고, 항온순환기(FT-102) 및 프란츠 투과시스템(FCDS-900C)은 Labfine Instruments(Anyang, Korea)의 것을 썼다.

### TZ의 정량

약물의 정량은 다음의 HPLC 조건으로 실시하였다. 칼럼으로는 Gemini<sup>®</sup> C18(110A, 5  $\mu$ m, 4.60  $\times$  150 mm, Phenomenex<sup>®</sup>, Torrance, CA, USA)을 써서 칼럼오븐 (AS-2051plus, Jasco, Japan)에서 25°C로 유지하였다. 이동상으로는 메탄올 · 물혼합액(60 : 40)을 사용하고, 유속 1.0 ml/min으로 유출시켜 파장 228 nm에서 검출하였다. 용해도측정 및 투과시험에서 얻은 시료용액을 적절히 희석하여 150  $\mu$ l를 취하고 내부표준용액(20  $\mu$ g/ml의 에틸파라벤의 50% 메탄올용액) 150  $\mu$ l와 섞은 액을 검액으로 하였다. 따로 티자니딘염산염 50 mg을 정밀하게 달아 물에 녹여 100 ml로 하고 이 액 2 ml를 정확하게 취하여 50% 메탄올을 넣어 100 ml로 한 다음 이 액 150  $\mu$ l를 취하여 내부표준용액 150  $\mu$ l와 섞은 액을 표준액으로 하였다. 검액 및 표준액을 가지고 20  $\mu$ l씩 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 내부표준물질에 대한 TZ의 피크면적비를 구하여 검액 중의 TZ의 양을 정량하였다.

### 용해도 측정

여러 종류의 용제를 각각 바이알에 1 ml씩 넣고 TZ 일정 과량 넣은 다음 밀전하고 항온진탕수욕장치를 이용하여 32°C에서 48시간 이상 진탕하여 용해평형에 도달하게 한 다음 정치하고 위의 맑은 액을 나일론 시린지 필터(직경 13 mm, 공경 0.45  $\mu$ m, Whatman)로 여과하였다. 여액 100  $\mu$ l를 취해 친수용제는 50% 메탄올로, 유성용제는 95% 메탄올을 넣어 10배 희석하였다. 필요한 경우 더욱 적절히 희석하였다. 이 희석액 150  $\mu$ l와 내부표준용액 150  $\mu$ l를 넣어 섞어 검액으로 하고 위의 정량법에 따라 용해량을 산출하였다.

### Strat-M<sup>TM</sup> 고분자막을 통한 TZ의 투과시험

**Strat-M<sup>TM</sup>의 준비와 투과시험** – 프란츠 셀의 온도를 32°C로 유지하고 Strat-M<sup>TM</sup>의 윗면이 도너용액을 향하도록 리셉터 셀에 올린 다음 도너 셀과 리셉터 셀을 클램프로 고정하였다. 리셉

터 셀에는 PEG 200 · 물 혼합액(40 : 60)을 리셉터용액으로 하여 고분자막의 아랫면에 기포가 생기지 않도록 주의하여 5 ml를 채우고 자석식 교반자를 써서 600 rpm으로 교반하였다. 도너 셀에는 각 실험방법에 따른 도너용액을 200  $\mu$ l씩을 넣고 마개를 하여 밀폐하였다. 시료용액은 1, 3, 6, 9, 12 및 24시간마다 리셉터 셀로부터 투과액 150  $\mu$ l씩 취하고 취한 부피만큼 새로운 리셉터 용액을 보충하였다. 채취한 투과액과 내부표준용액을 1 : 1 부피비로 섞고 위의 정량법에 따라 TZ을 정량하고 누적 투과량을 산출하였다. 이 투과시험 조작은 3회 이상 반복하였다.

**친수용제 및 유성용제의 영향** – 용해도 측정 결과 용해도가 상대적으로 높았던 친수용제인 PEG 200, PG, NMP, DMSO, EtOH, DGME에는 그 1 ml에 TZ 2 mg을 녹여 도너용액으로 하였고, TZ의 용해도가 2 mg/ml 미만인 LBF, PGMC 및 PGML의 유성용제에는 TZ을 32°C에서 24시간 동안 항온 진탕한 포화용액을 도너용액으로 하였다. 이들 용액 각 200  $\mu$ l씩을 도너 셀에 넣고 위에서와 같이 투과시험을 하였다.

**친수용제 및 유성용제 중 투과촉진제의 영향** – 투과촉진제로서 포화지방산인 LA와 지방알코올인 OAL을 사용하였고, 용제로서는 친수용제인 PG와 유성용제인 PGMC를 이용하여 PG + LA, PG + OAL, PGMC + LA, PGMC + OAL의 네 가지로 하고 용제 970  $\mu$ l에 투과촉진제 30  $\mu$ l를 넣어 섞었다. PG계에는 TZ 2 mg을 넣고 녹였고, PGMC계에는 티자니딘을 32°C에 24시간 항온 진탕한 포화용액을 도너용액으로 하였다. 각 용액 200  $\mu$ l씩을 도너 셀에 넣고 위에서와 같이 투과시험을 하였다.

### 무모마우스 적출피부를 통한 TZ의 투과시험

**무모마우스의 피부 투과시험** – 적출하여 냉동 보관한 피부는 시험 1시간 전에 미리 꺼내어 해동한 다음 약 1.5 cm  $\times$  1.5 cm 크기로 9등분하여 피부투과시험에 사용하였다. 프란츠 셀의 온도를 32°C로 유지하고 무모마우스의 등쪽 피부가 도너 셀을 향하도록 리셉터 셀에 올려 고정한 다음 앞에서 기술한 투과시험 방법에 따라 조작하여 누적 투과량을 산출하였다.

**용제의 영향** – Strat-M<sup>TM</sup> 인공막을 이용한 순수 용제에서 투과가 양호한 것으로 나타난 PEG 200, PG, LBF, PGMC, PGML, DGME의 6가지 용제를 가지고 무모마우스 적출피부를 통한 투과시험을 하였다. TZ의 용해도가 높았던 PEG 200, PG, DGME에는 용제 1 ml에 TZ 2 mg을 녹여 도너용액으로 하였고, 용해도가 2 mg/ml보다 낮았던 LBF, PGMC, PGML은 각 용제 1 ml에 TZ을 넣어 32°C에 24시간 동안 항온 진탕한 포화용액을 도너용액으로 하였다. 이들 용액 각 200  $\mu$ l씩을 도너 셀에 넣고 위에서와 같이 투과시험을 하였다.

**투과촉진제의 영향** – 투과촉진제로서 포화지방산인 CA, CLA와 불포화지방산인 OA와 LA 그리고 지방알코올인 OAL을 사용하였고, 용제로는 친수용제인 PG와 유성용제인 PGMC를 이용

하여 열 가지 경우의 수로 나누어 각 용제 970 μl에 투과촉진제 30 μl를 넣어 섞었다. PG계는 각 액 1 ml에 TZ 2 mg을 넣어 녹여 도너용액으로 하였고, PGMC계는 이 액 1 ml에 TZ를 넣어 32°C에 24시간 동안 항온 진탕한 포화용액을 도너용액으로 하였다. 이들 용액 각 200 μl씩을 도너 셀에 넣고 위에서와 같이 투과시험을 하였다.

**친수용제 중 LA의 영향** - 시험한 투과촉진제 중 그 효과가 양호한 것으로 나타난 LA의 존재 하에서 친수용제들 간의 투과속도를 비교하였다. 친수용제로는 PEG 200, PG, NMP, DMSO, EtOH, DGME를 사용하여 각 용제 970 μl에 LA 30 μl를 넣어 섞었다. 이 액 1 ml에 TZ 2 mg을 녹여 도너용액으로 하였다. 이들 용액 각 200 μl씩을 도너 셀에 넣고 위에서와 같이 투과시험을 하였다.

**PG 중 LA 및 OAL 농도의 영향** - 투과촉진제로 LA와 OAL을 선택하여 이들의 농도가 TZ의 투과속도에 미치는 영향을 검토하기 위해 PG에 이들 농도를 각각 1, 3 및 5%가 되도록 조제하고 이 용액 1 ml에 TZ 2 mg을 넣어 녹여 도너용액으로 하였다. 이들 용액 각 200 μl씩을 도너 셀에 넣고 위에서와 같이 투과시험을 하였다.

**초기 도너 농도의 영향** - PG에 LA를 넣어 녹여 3 v/v%가 되도록 한 다음 이 액 1 ml에 TZ를 넣어 녹여 m당 0.5, 1, 2, 4 mg이 되도록 도너용액을 조제하여 각 200 μl씩을 도너 셀에 넣고 위에서와 같이 투과시험을 하였다.

**데이터 처리**

TZ의 누적 투과량은 Gwak 등<sup>22)</sup> 및 Lee 등<sup>23)</sup>의 방법에 따라 시간에 대하여 플롯을 하여 누적 곡선의 직선 부분으로부터 정상상태 플럭스( $J_s$ )를 구하였고 지체시간( $L_p$ , hr)은 직선 부분을 외삽하여  $x$  축과의 교점으로부터 구하였다. 모든 데이터는 평균값 ± 표준편차( $n = 3$ )로 나타내었다. 통계 비교는 GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)의 Student's  $t$ -test and analysis variance(one-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test)를 실시하여  $p$  값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

**실험결과 및 고찰**

**HPLC 법에 의한 TZ의 정량**

용해도 측정 및 투과시험에서 TZ의 HPLC 정량법을 확립하고자 검토한 결과 이동상으로 60% MeOH을 이동상으로 쓰고 에틸파라벤을 내부표준물질로 사용하였을 때 양호한 분리 상태를 보였으며 그 전형적인 크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다. TZ과 에틸파라벤의 유지시간은 각각 약 2.7분 및 5.0분대로 양호하게 분리되었다. TZ의 농도를 1 ~ 20 μg/ml로 변화시켜 작성

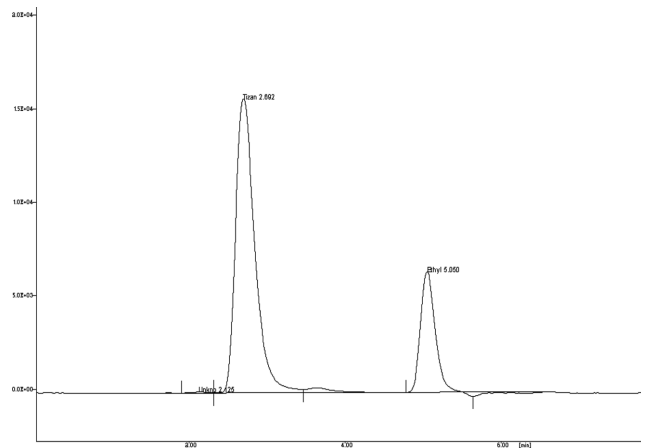


Fig. 2 - HPLC chromatograms of TZ standard solution containing ethyl paraben as the internal standard.

한 검량선의 직선성은  $y = 0.2656x - 0.0591$  ( $R^2 = 0.9999$ )로 매우 양호하였다. 또한 일내 정확성은 1.61%, 일내 정밀성은 1.1%로 나타났으며, 일간정확성은 1.4%, 일간정밀성은 1.9%로 직선성과 정확성, 정밀성이 양호하였고 정량한계는 0.1 μg/ml로 확인되었다. 실제 각종 용제에서의 용해도 측정 및 투과액에 적용하였을 때 다른 성분들과 양호하게 분리되었다. 원료의약품 및 제제 중 TZ의 분석법으로 HPLC법<sup>24-26)</sup>이 보고되어 있지만, 이 연구에서는 다량의 시료 처리와 감도를 고려하여 228 nm에서 검출하고 분석시간을 단축할 수 있는 이동상 조건으로 설정하였다.

Table I - Solubility of TZ in various vehicles at 32°C

Vehicles	Solubility (mg/ml)
Water	57.54±2.73
PG	53.93±1.45
DMSO	49.5±0.55
EtOH	23.03±0.35
PEG 200	14.07±0.58
NMP	8.19±0.90
PEG 300	6.74±0.12
PEG 400	3.51±0.21
DGME	2.21±0.32
PGML	0.83±0.17
LBF	0.52±0.18
PGMC	0.26±0.01
OA	0.16±0.00
Captex 300	0.03±0.00
Captex 200	0.01±0.00
IPM	0.00±0.00

Data were expressed as the mean±S.D. ( $n = 3$ ). PG: propylene glycol, DMSO: dimethyl sulfoxide, EtOH: ethanol, PEG: polyethylene glycol, NMP: N-methyl-2-pyrrolidone, DGME; diethylene glycol monoethyl ether, PGML: propylene glycol monolaurate, LBF: propylene glycol dicaprylocaprate, PGMC: propylene glycol monocaprylate, OA: oleic acid, Captex 200: propylene glycol dicaprylocaprate, Captex 300: glyceryl tricaprylate/tricaprate, IPM: isopropyl myristate.

### 친수 및 친유 용제 중 TZ의 용해도

수종의 단일 용제 중 TZ의 용해도를 32°C에서 측정하여 그 결과는 Table I에 나타내었다. TZ은 염산염의 형태로서 일본약전 제16개정 의약품각조에 따르면 물에 녹는 정도의 용해성을 가지고 있다. 친수 및 유성 용제에서 TZ의 용해도를 측정한 결과 water > PG > DMSO ≫ EtOH > PEG 200 > NMP > PEG 300 > PEG 400 > DGME > PGML > LBF > PGMC > OA > Captex 300 > Captex 200 > IPM으로 유의성( $p > 0.05$ ) 있는 순서를 보였다. TZ의 용해도는 극성이 큰 용제일수록 용해성이 증가하는 경향을 보였다. PG의 경우 용해도가 약 53.9 mg/ml이었는데 1일 투여량이 3 ~ 6 mg임을 고려하면 감압접착성 패치제의 설계에 충분한 용해도를 가졌다고 볼 수 있다.

### STRAT-M™ 인공막을 통한 TZ의 투과성

**용제가 TZ의 투과에 미치는 영향** - 실험동물의 윤리 문제가 세계적으로 강조되면서 비임상시험에서 동물을 대체할 수 방법에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 피부 투과 연구에는 래트, 마우스, 기니피그, 토끼 등 피부가 이용되어 왔다. 이러한 동물이나 사람의 피부를 대체하여 피부 투과성을 예측할 수 있는 물질로 실리콘막과 폴리(2-히드록시메틸메타크릴레이트),<sup>27</sup> 복숭아, 토마토, 양파 등 천연 막,<sup>28</sup> 3차원의 사람 배양피부 모델 (Episkin<sup>SM</sup> and EpiDerm<sup>TM</sup>),<sup>29</sup> 폴리(디메틸실록산)/폴리(에틸렌 글리콜) 공중합체를 침투시킨 인공막,<sup>30</sup> Strat-M<sup>TM</sup> 인공막<sup>21,31</sup> 등이 보고되었다. 특히 Strat-M<sup>TM</sup> 인공막은 머크밀리포아사가 개발한 피부투과 연구용 합성고분자막으로 폴리에테르술폰, 폴리올레핀 및 후처리한 합성 지질을 조성으로 하고 있다. Uchida 등<sup>21</sup>은 이 인공막은 3개 층으로 첫째 및 둘째 층에는 지질이 존재하며, 첫째, 둘째 및 셋째 층의 두께는 각각 약 52, 77 및 196  $\mu\text{m}$ , 전체 두께는 약 325  $\mu\text{m}$ 로 측정되었으며, 많은 화합물에 대해 사람 피부 투과성을 예측할 수 있는 모델임을 제시하였다.

따라서 피부투과에 유리한 용제를 검색하기 위하여 TZ의 용해도가 0.5 mg/ml 이상인 친수용제 6종 및 유성 용제 3종에 TZ을 녹여 친수용제에서는 2 mg/ml로 하고, 유성용제에서는 포화용액을 사용하여 24시간에 걸쳐 투과시험을 실시하였다. 경시적인 누적 투과량으로부터 정상상태 플럭스( $J_s$ ), 지체시간( $T_L$ ) 및 겉보기 투과계수( $P_{app}$ )를 (1) 및 (2) 식<sup>32</sup>에 따라 구하여 Table II에 나타내었다.

$$J_s = (dQ/dt)_{ss} \times 1/A = DKC/h \quad (1)$$

$$P_{app} = (dQ/dt) \times 1/A \times 1/C_s \quad (2)$$

단,  $D$ 는 확산계수,  $K$ 는 피부/용제 간 분배계수,  $(dQ/dt)_{ss}$ 는 정상상태 기울기,  $A$ 는 투과면적,  $h$ 는 피부 두께,  $C$ 는 도너 액의 일정농도,  $C_s$ 는 포화용액 중 약물 농도를 나타낸다.

24시간대의 누적 투과량( $Q_{24hr}$ ,  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )으로 비교하면 TZ의 투과속도는 PGMC(550.7±22.6) ≥ LBF(389.2±200) > DMSO(133.4±35.8) ≥ NMP(118.8±25.5) ≥ PG(46.8±11.0) ≥ PGML(46.8±46.8) ≥ PEG 200(21.9±3.67) ≥ DGME(13.2±10.0) > EtOH의 순서이었으며 EtOH에서는 투과가 일어나지 않았다. 대체적으로 PGMC와 LBF와 같은 유성용제에서의 투과성이 친수용제에서보다 현저히( $p < 0.01$ ) 높게 나타났다. 이는 이들 유성용제에서 TZ의 용해도가 2 mg/ml 이하(Table I)로 낮지만 포화용액을 사용하였기 때문에 열역학적 활성도가 높고, 인공막과의 친화성 및 유동성 증가로 인하여 투과속도가 큰 것으로 생각된다. 또한 DMSO, NMP, PG와 같은 친수용제에서 통계적으로 유의하지는 않았지만 동일 도너농도인데도 투과속도에 차이가 보이는 것은 용제에 따라 용존 약물의 활성도가 다르고 피부에서와 같이 인공 고분자막에 대한 영향과 약물의 투과 촉진효과가 다르기 때문인 것으로 생각된다.

**친수용제와 유성용제 중 투과촉진제가 TZ의 투과에 미치는 영향** - 용제 단독에서는 PGMC가 가장 높은 투과촉진 효과를 나타내었지만 투과촉진제가 존재하는 경우 투과 양상이 달라질 수

**Table II** - Permeation parameters of TZ through Strat-M<sup>TM</sup> artificial membrane from various pure vehicles as a function of time

Pure vehicles	Permeation parameters			
	$Q_{24 \text{ hr}}$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$J_s$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ )	$T_L$ (hr)	$P_{app}$ ( $\times 10^7$ cm/s)
PEG 200 <sup>1)</sup>	21.9±3.70	1.5±0.27	9.7±1.6	2.1±0.38
PG <sup>1)</sup>	46.8±11.0	3.1±0.62	9.1±0.9	4.4±0.86
NMP <sup>1)</sup>	118.8±25.50	6.1±1.1	0.93±1.4	8.4±1.46
DMSO <sup>1)</sup>	133.4±35.80	7.0±1.5	5.3±2.3	9.8±2.06
EtOH <sup>1)</sup>	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
DGME <sup>1)</sup>	13.2±10.0	0.50±0.17	6.6±7.6	0.70±0.24
LBF <sup>2)</sup>	389.2±200**	22.9±11.9	6.8±1.9	31.7±16.5
PGMC <sup>2)</sup>	550.7±22.6**	30.8±6.1	3.5±3.5	332.5±66.2
PGML <sup>2)</sup>	46.8±46.8	0.73±0.58	6.1±0.8	2.44±1.95

Data were expressed as the mean±S.D. ( $n = 3$ ).

Donor concentration was 2 mg/ml for hydrophilic vehicles<sup>1)</sup>, and was saturated for lipophilic vehicles<sup>2)</sup>.

$Q_{24 \text{ hr}}$ : cumulative amount of TZ permeated after 24 hr;  $J_s$ : steady state flux;  $T_L$ : lag time;  $P_{app}$ : apparent permeability coefficient; N.A.: not available due to the detection of trace amount. For other abbreviations, refer to Table I.

\*\*Significantly different from hydrophilic vehicles such as PEG 200, PG, NMP, DMSO and lipophilic vehicle such as PGML.

**Table III** – Permeation parameters of TZ through Strat-M™ membrane from PG and PGMC with 3 v/v% enhancers

Vehicle	Enhancer	Permeation parameters			
		$Q_{24\text{ hr}}$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$J_s$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ )	$T_L$ (hr)	$P_{\text{app}}$ ( $\times 10^7$ cm/s)
PG	None	46.8±11.0	3.1±0.62	9.1±0.93	4.4±0.86
	LA	116.4±21.0**	10.1±2.45**	1.4±0.41	14.1±3.40
	OAL	193.9±16.8***	8.5±0.96**	0.56±1.50	11.8±1.34
PGMC	None	550.7±22.6	30.8±6.14	3.5±3.51	332.5±66.2
	LA	208.6±20.2***	15.4±5.99**	2.5±1.05	165.8±64.6
	OAL	550.7±22.6	33.8±3.52	4.2±2.85	364.22±38.0

Data were expressed as the mean±S.D. ( $n = 3$ ).

Donor TZ concentration was 2 mg/ml in PG, and saturated in PGMC.

For abbreviations, refer to Tables I and II. LA: linoleic acid, OAL: oleyl alcohol. For PG,  $Q_{24\text{ hr}}$  and flux in the presence of LA and OAL are significantly different from None.

For PGMC,  $Q_{24\text{ hr}}$  and flux in the presence of LA are significantly different from None

있으므로 친수용제인 PG와 유성용제인 PGMC를 택하여 투과촉진제의 영향에 대해 검토하였다. 친수용제 중 DMSO가 PG보다 훨씬 높은 투과속도를 보였지만 이 물질은 피부장애 등의 안전성 문제<sup>23)</sup>로 인하여 이 연구에서는 피부 외용제의 용제로 널리 쓰이는 PG를 선택하였다.

누적 투과량과 누적 투과 프로파일로부터 구한 투과파라미터를 Table III에 나타내었다. PG 단독에서는 플럭스 값이  $3.13 \pm 0.62 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 이었던 것에 비해 LA나 OAL이 존재할 때는 각각  $10.1 \pm 2.5$  및  $8.5 \pm 0.96 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 로 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 증가되었다. 지체시간( $T_L$ )은 용제 단독에서는 9.1시간으로 투과가 매우 느렸지만 투과촉진제를 첨가하였을 때는 1시간대부터 투과가 일어났다.

그러나 PGMC의 경우에는 OAL의 존재 시 별다른 촉진 효과가 보이지 않았으며, LA가 첨가되었을 때는 오히려 유의성 있게 ( $p < 0.01$ ) 투과를 감소시켰다. 이와 같이 PG에서 투과촉진제의 효과가 크게 나타난 것은 유성인 LA나 OAL의 활성도가 유성용제에서보다 높아 Strat-M™ 인공막으로의 침투가 용이하여 영향을 미치기가 유리하기 때문으로 보인다. 또 PGMC에서는 OAL의 활성도가 낮아 인공막에 대한 영향이 작게 작용한 것으로 보이며, LA는 이 고분자막의 표면에 침착하여 약물 투과를 불리하게 하는 것으로 보이지만 이는 더욱 추구해 볼 필요가 있다.

**무모마우스 피부를 통한 TZ의 투과성**

**용제가 TZ의 피부투과에 미치는 영향** – 피부투과 시험에서 동물모델로 널리 쓰이고 있는 무모마우스와 Strat-M™ 인공막과의 상관성을 확인하기 위해 여러 용제를 가지고 TZ를 동일한 조건으로 도너용액을 만들어 투과시험을 하였고, 용제로는 Strat-M™ 인공막에서 투과가 양호하였던 6종의 용제를 선택하여 투과시험을 실시하였다. DMSO와 NMP는 투과촉진효과가 높았지만 안전성의 문제로 인하여 이 실험에서는 제외하였다. 래트 피부 추출액<sup>16)</sup>이나 피부 투과 중<sup>17)</sup> TZ의 분해는 거의 없는 것으로 보고되었다. TZ의 무모마우스 투과는 9시간대부터 느리게 일어났으며 Strat-M™ 인공막과 비교하여 매우 낮은 투과속도를

보였다. 24시간 후 투과량( $Q_{24\text{ hr}}$ ,  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )은 대체적으로  $\text{PG}(22.3 \pm 6.4) \geq \text{PGML}(12.6 \pm 7.4) > \text{PGMC}(5.7 \pm 2.0) \geq \text{PEG 200}(2.78 \pm 2.89) \geq \text{LBF}(0.75 \pm 0.41) \geq \text{DGME}(0.03 \pm 0.06)$ 의 순이었다. PG는 Strat-M™ 인공막에서 높은 투과를 보인 PGMC나 LBF보다 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 무모마우스 피부 투과량을 증대시켰다. 순수 용제에서 TZ의 투과는 Strat-M™ 인공막과 무모마우스 피부에 따라 그 지체시간, 누적 투과량에 있어서 현저한 차이를 보였고, 용제에 따른 투과증진 순위도 다른 양상을 보였다. Uchida 등<sup>21)</sup>은 여러 화합물들의 매질로 인산염원충수용액을 사용하고 Strat-M™ 인공막과 무모래트 피부의 투과성을 비교한 결과 양호한 상관성을 보였다고 하였지만, 이 연구에서와 같이 비수성 용제들을 매질로 사용한 경우는 단순히 Strat-M™ 인공막의 투과성만을 가지고 동물이나 사람 피부 투과성을 예측하기는 어렵다는 것을 알 수 있다.

**친수용제와 유성용제 중 투과촉진제가 TZ의 무모마우스 피부 투과에 미치는 영향** – 친수용제와 유성용제에 따른 투과촉진제의 효과가 검토하였다. 친수용제로 PG를, 유성용제로 PGMC를 선택하고 투과촉진제로는 포화지방산인 CA와 CLA를, 불포화지방산인 OA와 LA를, 그리고 지방알코올로 OAL을 선택하여 3 v/v%로 첨가하여 투과시험을 실시하였다. 그 결과 PG를 용제로 하였을 때의 투과 파라미터를 Table IV에 나타내었다. PG에서는 투과촉진제의 존재 시  $Q_{24\text{ hr}}$  값은  $\text{OA} \geq \text{LA} \geq \text{OAL} \gg \text{CA} \geq \text{CLA} \geq \text{None}$ 의 순이었으며 OA에서 약 9배 증가하였다. 투과촉진제의 종류 별로 보면 OA와 LA 및 OAL의 투과촉진 효과가 투과촉진제가 첨가되지 않은 것과 비교하여 유의성( $p < 0.001$ ) 있게 컸으며 이들 사이에는 유의성 있는 차이는 없었다. 한편 포화지방산에서는 투과촉진 효과가 통계적으로 인정되지 않았다.

PGMC의 경우에는 PG와 반대로 투과촉진제의 존재 시  $Q_{24\text{ hr}}$  값은 용제 단독일 때의  $5.6 \pm 2.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 에 비하여 유의성 있는 증가를 보여 주지 않았다. 이와 같이 유성용제에서 투과증진 효과가 보이지 않은 것은 지방산류의 활동도가 매우 낮고, 지방산의 투과증진 기전<sup>33,34)</sup>으로 알려진 피부에 대한 각질층 성분과의

**Table IV** – Permeation parameters of TZ through excised hairless mouse skin from PG containing 3 v/v% fatty acid or fatty alcohol as an enhancer

Enhancer	Permeation parameters			
	$Q_{24\text{ hr}}$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$J_s$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ )	$T_L$ (hr)	$P_{\text{app}}$ ( $\times 10^7$ cm/s)
None	22.3±6.41	1.66±0.28	10.78±1.55	2.31±0.39
OA	193.6±54.2***	14.47±1.64	3.68±0.62	20.10±2.28
LA	177.4±22.4**	13.72±1.28	4.43±1.12	19.05±1.78
CA	45.5±13.4	4.43±0.61	7.45±3.81	6.16±0.84
CLA	27.1±5.1	2.05±0.44	10.68±0.74	2.84±0.61
OAL	167.5±11.8***	14.91±3.07	4.31±1.22	20.71±4.26

Data were expressed as the mean±S.D. ( $n = 3$ ).

Donor TZ concentration was 2 mg/ml in PG.

For abbreviations, refer to Table II. CA: capric acid, CLA: caprylic acid, OAL: oleyl alcohol.

\*\*\*Significantly different from None ( $p < 0.001$ ).

상호작용, 각질층의 교란 및 각질층으로의 분배 등을 일으키지 못한 때문으로 추정된다.

**친수용제 중 LA가 TZ의 무모마우스 피부 투과에 미치는 영향** – 앞의 시험결과에서 보면 단일용제에서는 투과촉진제 존재 시 유성용제인 PGMC보다는 친수용제인 PG에서 투과성이 훨씬 양호하였기 때문에 6종의 친수용제를 선택하고, 투과촉진제로는 지방산류 중 불포화지방산인 OA와 LA가 Table IV에서와 같이 높은 투과촉진 효과를 보였지만 통계적으로 유의한 차이는 없었으므로 이 연구에서는 LA를 3%v/v로 첨가하여 투과시험을 실시하였다. 그 결과를 Table V에 나타내었다. 용제에 따른 투과촉진효과의 순서는 DMSO ≥ PG > PEG 200 > DGME ≥ NMP ≥ EtOH 순이었다. NMP, EtOH 및 DGME는 촉진제의 존재 시에도 투과량이 매우 낮았고, 경시적으로도 투과량을 증가시키지 못하였기 때문에 플럭스 등의 파라미터를 산출할 수 없었다. DMSO가  $Q_{24\text{ hr}}$  값과 플럭스 값은 가장 컸지만 PG와 유의성 있는 차이는 없었으며, 또 DMSO가 용제 자체로서의 안전성 문제가 고려되기 때문에 이후의 연구에서는 PG를 선택하여 추가적으로 검토하였다.

**LA 및 OAL 농도가 TZ의 무모마우스 피부 투과에 미치는 영향** – 이상의 연구에서는 TZ의 피부 투과를 위한 적절한 용제와 투과촉진제를 선택하기 위해 3 v/v%의 투과촉진제를 사용하였지

만 투과촉진제의 농도에 따라서도 투과가 달라질 수 있기 때문에 투과촉진제의 농도 영향을 검토하였다. 용제로는 PG를 선택하였고, 투과촉진제로는 LA와 OAL을 선택하여 1, 3, 5 v/v%의 농도로 변화시켜 투과시험을 하였다. 그 결과 Table VI에서 보는 바와 같다. PG에 3 v/v% LA를 첨가했을 때에 누적 투과량이 177.4±22.4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 으로 가장 높았고, 플럭스도 13.72±1.28  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ , 지체시간 4.43±1.12 hr, 겉보기 투과계수 19.05±1.78( $\times 10^7$  cm/s)로 양호하였으며 1~5%의 OAL과 유의한 차이는 없었다. LA 농도를 5 v/v%로 증가시켰을 경우에는 3 v/v% 첨가 시에 비해 유의하게 다소 감소되었다. 한편 OAL을 첨가한 경우 모든 농도에서 첨가하지 않은 경우에 비해 현저하게( $p < 0.001$ ) 투과증진 효과를 보여주었고 1~5%의 농도 범위에서 유의한 차이는 없었다.

**초기 도너 농도가 TZ의 무모마우스 피부 투과에 미치는 영향** – TZ의 농도 변화가 투과에 미치는 영향을 검토하기 위하여 PG에 TZ를 녹여 0.5, 1, 2 및 4 mg/ml로 변화시키고 각각에 3%v/v LA를 첨가한 액을 도너용액으로 하여 투과시험을 실시한 결과 투과 플럭스( $n = 3$ )는 각각 2.24±0.45, 5.44±0.38, 13.72±1.28 및 18.77±1.32  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 로 산출되었다. 이 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 농도 증가에 따라 플럭스 값이 농도 의존적으로( $r = 0.9609$ ) 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 증가하였다. 4 mg/ml의 농도는

**Table V** – Permeation parameters of TZ through excised hairless mouse skin from hydrophilic vehicles containing 3 v/v% LA

Enhancers	Permeation parameters			
	$Q_{24\text{ hr}}$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$J_s$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ )	$T_L$ (hr)	$P_{\text{app}}$ ( $\times 10^7$ cm/s)
PEG 200	79.4±18.3	4.8±1.0	7.5±0.5	6.68±1.36
PG	177.4±22.4***	13.72±1.28	4.43±1.12	19.05±1.78
NMP	13.2±12.9	N.A.	N.A.	N.A.
DMSO	217.7±34.2	13.9±2.3	8.3±1.4	19.29±3.16
EtOH	3.7±6.3	N.A.	N.A.	N.A.
DGME	16.1±21.5	N.A.	N.A.	N.A.

Data were expressed as the mean±S.D. ( $n = 3$ ).

Donor TZ concentration was 2 mg/ml in each vehicles.

N.A.: not available due to very low detection. For abbreviations, refer to Tables I and II.

\*\*\*Significantly different from PEG 200, NMP, EtOH and DGME ( $p < 0.001$ ).

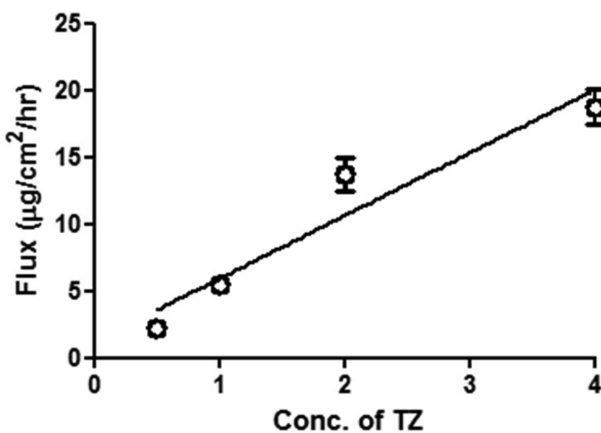
**Table VI** – Permeation parameters of TZ through excised hairless mouse skin from PG containing different enhancer concentrations

Conc. of enhancer	Permeation parameters			
	$Q_{24\text{hr}}$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$J_s$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ )	$T_L$ (hr)	$P_{\text{app}}$ ( $\times 10^7$ cm/s)
None	22.3±6.41	1.66±0.28	10.78±1.55	2.31±0.39
1% LA	113.9±15.8***	7.93±0.71	9.63±1.44	11.02±0.99
3% LA	177.4±22.4***	13.72±1.28	4.43±1.12	19.05±1.78
5% LA	102.5±6.48***	8.16±0.55	5.21±0.71	11.34±0.76
1% OAL	144.0±25.4***	9.59±1.07	4.47±1.54	13.32±1.49
3% OAL	132.3±14.4***	12.13±3.09	5.06±0.25	16.85±4.29
5% OAL	177.0±12.3***	14.20±1.01	4.48±0.90	19.73±1.40

Data were expressed as the mean±S.D. ( $n = 3$ ).

Donor dose was 2 mg/ml in each vehicle. For abbreviations, refer to Table II and III.

\*\*\*Significantly different from None ( $p < 0.001$ ).



**Fig. 3** – Donor concentration-dependency ( $r = 0.9606$ ) of the TZ flux through excised hairless mouse skin from PG with LA (3 v/v%).

실제 도너 셀에 200  $\mu\text{l}$ 를 적용하였기 때문에 약물량은 0.8 mg/0.64  $\text{cm}^2$ 에 해당한다. 이때의 플럭스 값인 18.8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 를 가지고 목표 치료농도(15.6 ng/ml)<sup>35</sup>로 유지하기 위한 TZ 용액처방의 부차면적을 (3식<sup>36</sup>)에 따라 계산하면 0.029  $\text{cm}^2$ 가 된다. 이 상과 같은 결과는 패치로부터의 TZ의 방출 및 사람 피부에서의 투과속도의 감소 등을 고려하더라도 이 용액처방을 가지고 drug-in-adhesive 형 패치제의 설계 가능성이 매우 높음을 시사한다.

$$J_s A = C_i C_p W \tag{3}$$

여기서,  $J_s$ 는 플럭스(18.8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ ),  $A$ 는 적용면적( $\text{cm}^2$ ),  $C_p$ 는 혈장중농도(0.0156  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ),  $C_i$ 는  $t_{1/2} = (\ln 2Vd)/Cl$ 을 이용하여 반감기( $t_{1/2}$ : 3.3 hr) 및 분포용적( $Vd$ : 2.4 l/kg)으로부터 계산한 클리어런스속도(0.504 l/hg) 및  $W$ 는 환자의 평균체중(70 kg)이다.

### 결론

TZ의 경피흡수제를 설계하기 위하여 여러 가지 친수 및 친유

용제를 가지고 용해도를 측정하고, Strat-M™ 인공막 및 무모마우스 적출피부를 이용하여 TZ의 *in vitro* 투과성을 비교 검토하여 얻은 결론은 다음과 같았다.

1. 용제들 중 TZ의 용해도는 Water(57.5±2.7 mg/ml) > PG(53.9±1.5 mg/ml) > DMSO >> EtOH > PEG 200 > NMP > PEG 300 > PEG 400 > DGME > PGML > LBF > PGMC > OA > Captex 300 > Captex 200 > IPM의 순서이었다.

2. Strat-M™ 인공막을 통한 여러 용제로부터의 TZ 투과는 PGMC ≥ LBF > DMSO ≥ NMP ≥ PG ≥ PGML ≥ PEG 200 ≥ DGME 순이었으며, 에탄올에서는 투과가 거의 일어나지 않았다. 반면 여러 용제가 무모마우스 피부 투과에 미치는 투과량( $Q_{24\text{hr}}$ )의 크기는 PG(22.3±6.4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) ≥ PGML > PGMC ≥ PEG 200 ≥ LBF ≥ DGME(0.03±0.06  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) 순이었다. 이러한 결과는 무모마우스 피부를 통한 투과가 매우 느렸고 투과량도 Strat-M™ 인공막에 비해 현저히 낮으며 친수 및 유성 용제 사이에 투과증진 순서도 서로 상이함을 나타내어 인공막과 무모마우스 간에는 상관성이 없음을 의미한다. Strat-M™ 인공막에서 투과촉진제의 존재 시 TZ의 투과는 PGMC-OAL계 및 PGMC-LA계에서는 투과증진 효과가 나타나지 않았으나 PG-OAL계 및 PG-LA계에서는 유의성 있게 투과를 증진시켰다.

3. 무모마우스 피부에 있어서 투과촉진제가 TZ의 투과( $Q_{24\text{hr}}$ )에 미치는 영향은 PG에서 OA(193.6±54.2  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) ≥ LA ≥ OAL > CA > CLA > None(22.3±6.4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )의 순이었으며, PGMC에서는 투과촉진 효과가 나타나지 않았다. 또 LA를 투과촉진제로 하고 친수용제를 변화시킨 결과 TZ의 투과( $Q_{24\text{hr}}$ )는 PG ≥ DMSO > PEG 200의 순이었고 NMP, DGME 및 EtOH에서는 투과 증진 효과가 나타나지 않았다. PG 중 LA와 OAL의 농도를 변화시킨 결과 3 v/v% 농도에서 최대에 도달하였고 이들의 투과증진 효과는 대체로 유사하였다. 초기 도너용액의 농도에 따라 0.5 ~ 4 mg/ml 범위에서 투과 플럭스는 농도 의존적으로 증대되었으며 TZ의 치료혈중농도의 유지에 충분한 투과량을 보였다.

이상의 투과시험 결과는 TZ의 새로운 비수성 경피흡수제 설



계를 위한 유용한 기초자료가 된다고 생각된다.

### 감사의 말씀

이 연구는 2014년 동덕여자대학교 연구년 제도에 의해 지원되었음.

### References

- 1) Wagstaff, A. J. and Bryson, H. M. : Tizanidine. A review of its pharmacology, clinical efficacy and tolerability in the management of spasticity associated with cerebral and spinal disorders. *Drugs* **53**, 435 (1997).
- 2) Lawson, K. : Tizanidine: a therapeutic weapon for spasticity? *Physiother.* **84**, 418 (1998).
- 3) Westfall, T. C. and Westfall, D. P. : Adrenergic agonists and antagonists. In: Brunton, L. L., ed. Goodmann and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York, Mc Graw-Hill Medical Publishing Division, pp. 237-295 (2005).
- 4) Shah, J., Wesnes, K. A., Kovelesky, R. A. and Henney, H. R. 3rd. : Effects of food on the single-dose pharmacokinetics/pharmacodynamics of tizanidine capsules and tablets in healthy volunteers. *Clin. Ther.* **28**, 1308 (2006).
- 5) Henney, H. R. and Shah, J. : Relative bioavailability of tizanidine 4-mg capsule and tablet formulations after a standardized high-fat meal: a single-dose, randomized, open-label, crossover study in healthy subjects. *Clin. Ther.* **29**, 661 (2007).
- 6) Henney, H. R. 3rd, Fitzpatrick, A., Stewart, J. and Runyan, J. D. : Relative bioavailability of tizanidine hydrochloride capsule formulation compared with capsule contents administered in applesauce: a single-dose, open-label, randomized, two-way, crossover study in fasted healthy adult subjects. *Clin Ther.* **30**, 2263 (2008).
- 7) Momo, K., Homma, M., Osaka, Y., Inomata, S., Tanaka, M. and Kohda, Y. : Effects of mexiletine, a CYP1A2 inhibitor, on tizanidine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J. Clin. Pharmacol.* **50**, 331 (2010).
- 8) Shanker, G., Kumar, C. K., Gonugunta, C. S. R., Kumar, B. V. and Veerareddy, P. R. : Formulation and evaluation of bioadhesive buccal drug delivery of tizanidine hydrochloride tablets. *AAPS PharmSciTech* **10**, 530 (2009).
- 9) Vakhapova, V., Auriel, E. and Karni, A. : Nightly sublingual tizanidine HCl in multiple sclerosis: clinical efficacy and safety. *Clin. Neuropharmacol.* **33**, 151 (2010).
- 10) Pendekal, M. S. and Tegginamat, P. K. : Formulation and evaluation of a bioadhesive patch for buccal delivery of tizanidine, *Acta Pharm. Sin. B* **2**, 318 (2012).
- 11) Kulkarni, G. S. and Sateesh Babu, P. R. : Design and evaluation of tizanidine buccal mucoadhesive patches. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2**, 74 (2012).
- 12) El-Mahrouk, G. M., El-Gazayerly, O. N., Aboelwafa, A. A. and Taha, M. S. : Chitosan lactate wafer as a platform for the buccal delivery of tizanidine HCl: In vitro and in vivo performance. *Int. J. Pharm.* **467**, 100 (2014).
- 13) Pulgamwar, G. V., Pentewar, R. S., Bharti, R. U., Bhosle, P. H., Kazi, S. N. and Inamdar, N. A. : Development and characterization of mucoadhesive drug delivery system of tizanidine hydrochloride, *Asian J. Pharm. Tech. Innov.* **3**, 1 (2015).
- 14) Patel, D., Naik, S. and Misra, A. : Improved transnasal transport and brain uptake of tizanidine HCl-loaded thiolated chitosan nanoparticles for alleviation of pain. *J. Pharm. Sci.* **101**, 690 (2012).
- 15) Vitale, D. C., Piazza, C., Sinagra, T., Urso, V., Cardì, F., Drago, F. and Salomone, S. : Pharmacokinetic characterization of tizanidine nasal spray, a novel intranasal delivery method for the treatment of skeletal muscle spasm. *Clin. Drug Investig.* **33**, 885 (2013).
- 16) Mutalik, S., Parekha, H. S., Daviesa, N. M. and Udupa, N. : A combined approach of chemical enhancers and sonophoresis for the transdermal delivery of tizanidine hydrochloride. *Drug Del.* **16**, 82 (2009).
- 17) Trivedi, S. U., Sudhakar, C. K. and Jain, S. : Transdermal administration of tizanidine hydrochloride using elastic vesicles: characterization and in vitro permeation studies. *Asian J. Pharm. Sci. Res.* **3**, 29 (2013).
- 18) Sandhya Rani, G., Supraja, N. and Ratnakar, A. : Formulation and evaluation of tizanidine hydrochloride transdermal patches. *Int. J. Adv. Pharm.* **4**, 64 (2014).
- 19) Nagadevi, B., Kumar, K. S., Venkanna, P. and Prabhakar, D. : Formulation and characterisation of tizanidine hydrochloride loaded ethosomes patch. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **6**, 199 (2014).
- 20) Abdel Azim, A. M., El-Ashmoony, M., Swealem, A. M. and Shoukry, R. A. : Transdermal films containing tizanidine: in vitro and in vivo evaluation. *J. Drug Del. Sci. Tech.* **24**, 92 (2014).
- 21) Uchida, T., Kadhum, W. R., Kanai, S., Todo, H., Oshizaka, T. and Sugibayashi, K. : Prediction of skin permeation by chemical compounds using the artificial membrane, Strat-M™. *Eur. J. Pharm. Sci.* **67**, 113 (2015).
- 22) Gwak, H. S. and Chun, I. K. : Effect of vehicles and penetration enhancers on the in vitro percutaneous absorption of tenoxicam through hairless mouse skin. *Int. J. Pharm.* **236**, 57 (2002).
- 23) Lee, J. H. and Chun, I. K. : Effects of various vehicles and fatty acids on the skin permeation of lornoxicam. *J. Pharm. Invest.*

- 42, 235 (2012).
- 24) Qi, M. L., Wang, P. and Wang, L. : Validated liquid chromatography method for assay of tizanidine in drug substance and formulated products. *Anal. Chim. Acta* **478**, 171 (2003).
- 25) Kaul, N., Dhaneshwar, S. R., Agrawal, H., Kakad, A. and Patil, B. : Application of HPLC and HPTLC for the simultaneous determination of tizanidine and rofecoxib in pharmaceutical dosage form. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **37**, 27 (2005).
- 26) Gandhimathi, M., Ravi, T. K. and Varghese, S. J. : Simultaneous LC determination of tizanidine and rofecoxib in tablets. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **37**, 183 (2005).
- 27) Hatanaka, T., Inuma, M., Sugibayashi, K. and Morimoto, Y. : Prediction of skin permeability of drugs. I. Comparison with artificial membrane. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 3452 (1990).
- 28) Ansari, M., Kasemipour, M. and Akalamli, M. : The study of drug permeation through natural membrane. *Int. J. Pharm.* **327**, 6 (2006).
- 29) Kano, S., Todo, H., Sugie, K., Fujimoto, H., Nakada, K., Tokudome, Y., Hashimoto, F. and Sugibayashi, H. : Utilization of reconstructed cultured human skin models as an alternative skin for permeation studies of chemical compounds. *Alter. Animal Test Exp.* **15**, 61 (2010).
- 30) Miki, R., Ichitsuka, Y., Yamada, T., Kimura, S., Egawa, Y., Seki, T., Juni, K., Ueda, H. and Morimoto, Y. : Development of a membrane impregnated with a poly(dimethylsiloxane)/poly(ethylene glycol) copolymer for a high-throughput screening of the permeability of drugs, cosmetics, and other chemicals across the human skin. *Eur. J. Pharm. Sci.* **66**, 41 (2015).
- 31) Sri Janani, N., Bharath Kumar, G., Balakrishna, P., Sruthi, D., Srujan Kumar, M. and Mantry, S. : A review on Strat-M membrane. *Int. J. Innov. Pharm. Sci. Res.* **2**, 962 (2014).
- 32) Barry, B. W. : *Dermatological Formulations*, Marcel Dekker, New York, pp. 1-48 (1983).
- 33) Golden, G. M., McKie, J. E. and Potts, R. O. : Role of stratum corneum lipid fluidity in transdermal drug flux. *J. Pharm. Sci.* **76**, 25 (1987).
- 34) Komata, Y., Kaneko, A. and Fujie, T. : In vitro percutaneous absorption of thiamine disulfide through rat skin from a mixture of propylene glycol and fatty acid or its analog. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 2173 (1992).
- 35) Moffat, A. C., Osselton, M. D. and Widdop, B. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*, 2nd Vol., 3rd ed., London, Pharmaceutical Press (2006).
- 36) Jeans, C. W. and Heard, C. M. : A therapeutic dose of primaquine can be delivered across excised human skin from simple transdermal patches. *Int. J. Pharm.* **189**, 1 (1999).