

경피용 프로드럭인 에틸 글리콜레이트의 국소자극 및 피부투과성

양성운[†] · 하용호* · 김종갑 · 최영욱[#]

중앙대학교 약학대학, *라미화장품(주)

(Received November 20, 1995)

Skin Penetration and Local Irritation of Ethyl Glycolate, a Potential Transdermal Prodrug

Sung Woon Yang[†], Yong Ho Ha^{*}, Johng Kap Kim and Young Wook Choi[#]

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

*Lamy Cosmetic Co., Ltd., Kyoungki 449-900, Korea

Abstract—Hyperkeratinization is a dermatologic disorder, which is due to the increase of corneocyte cohesion force. Glycolic acid, an alpha hydroxy acid (AHA), has been used to breakdown the hyperkeratinization processes. However, it has a problem of skin irritation when applied topically, due to the strong acidity especially in high concentration. A molecular optimization of glycolic acid has been tried to reduce the skin irritation by the way of prodrug formation. Ethyl glycolate was synthesized by the esterification of glycolic acid with ethanol in acidic conditions in the presence of sulfuric acid, and examined under the spectroscopic trials, such as UV, IR, ¹H-NMR, and GC-MS. The physicochemical and biopharmaceutical properties of the prodrug were also evaluated. Through the toxicological tests of both skin irritation and eye mucous irritation, it has been proved that ethyl glycolate was less irritant than glycolic acid, since the pH value of synthetic prodrug was higher than that of glycolic acid. In the penetration test through nude mouse skin by diffusion cell, ethyl glycolate was continuously hydrolyzed to glycolic acid, which was assayed from the receptor compartment. It was obtained that the penetrated amount of ethyl glycolate was five times higher than that of glycolic acid. These results suggest that ethyl glycolate might be a successful prodrug of glycolic acid to reduce the skin irritation and to increase the skin penetration as well.

Keywords □ Glycolic acid, Ethyl glycolate, Hyperkeratinization, Skin penetration, Local irritation, Prodrug.

Glycolic acid는 식물의 엽 특히 미숙과실과 동물의 생체내에 함유되어 있는 생체 성분이며 인공 가공체로서는 플라스틱 가공제, 화학비료 코팅재료, 접착제, 금속의 표면처리 등의 공업적인 용도^{1,2)}로 주로 사용되어 왔으며 근래에는 화장품의 보습제³⁾로 쓰이고 있다. 약학적인 용도로는 생분해성 고분자의 단위체⁴⁻⁶⁾로도 사용되며 또 아미노산, 인도메타신, 지방산, 프레드니솔론

과 같은 약물을 프로드럭으로 유도할때에 double ester 중간 유도체로 쓰이고 있다.⁷⁾ 1970년대에 와서 Van Scott등은 alpha hydroxy acids계의 약물들의 약리작용과 치료효과에 대한 보고⁸⁾에서 저분자량의 glycolic acid에서 부터 lactic acid, malic acid, citric acid, mandelic acid, tartaric acid 및 aromatic계의 ortho-salicylic acid까지의 물질군이 피부의 과각화(hyperkeratinization)에 의해 유발된 피부병변에 국소 적용으로 유효함을 기술하였다.

피부과각화는 corneocyte 간의 결합력이 증대됨으로 인해 각화된 피부의 박리가 감소되어 각질층이 비정상

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 02-820-5609 (팩스) 02-826-3781

[†] 현주소 : 진로그룹 종합연구소 정밀화학팀

적으로 비후된 것으로서 이의 치료 약물로서는 cresol, resorcinol, phenol, urea, retinoic acid 등이 소개되어 왔다.^{9, 10} 이들 약물은 이미 형성된 각질세포를 용해시키는 작용을 가진다. 반면 전술한 alpha hydroxy acids 계열의 약물군의 약리작용은 alpha hydroxy acids가 corneocyte간의 결합에 필요한 이온결합 형성에 관여하는 효소, 예를 들면, sulfate transferase, phosphotransferase 및 kinase 등의 작용을 억제^{11, 12} 하므로써 corneocyte 간의 결합력을 감소시켜 새로 생성되는 각질층의 형성을 억제하고 과각화된 피부의 박리를 촉진시킨다고 보고⁸) 되었다.

현재 glycolic acid의 임상적인 응용범위로는 피부 과각화에 의해 유발된 거의 모든 피부 질환에 사용이 가능한 것으로 알려져 있으며 특히, 태선증, 여드름, 건선, 습진, 색소침착등에 치료 효과가 있고¹³⁻¹⁶ 건조피부¹⁷ 등에 사용하여 피부의 보습제³로도 쓰이고 있다. Glycolic acid의 국소 용법에는 주로 두가지의 방법이 적용된다. 속효성을 기대하기 위해서는 70% 이상의 고농도의 액상제 또는 겔제로서 각질화된 피부에 적용하며, 이 방법은 수일 이내에 치료효과를 기대하는 경우이다. 그러나, glycolic acid가 각질화된 세포외의 정상피부에서는 자극으로 인한 홍반, 염증, 세포상해 등의 부작용을 일으키므로, 적용시에 많은 주의가 필요하고 적용 후에는 정상피부의 손상을 방지할 목적으로 적용부위를 신속히 중탄산나트륨용액으로 세척해 주어야 한다. 한편, 완만한 치료법은 5~10% 농도의 반고형제로서 겔제를 이용하는데 이는 고농도에서 얻을 수 있는 자극성을 완화시킨 농도이므로 자가치료법이 가능하다. 그러나, 효과 발현 기간이 수주에 걸치므로 오랜기간 적용하여야 하며 이때의 낮은 농도에서도 그 자극성을 피할 수 없게 된다.¹⁸ 이러한 이유로 화장품에서는 보습제로서 glycolic acid를 사용할 경우 대개 1%이하의 극히 낮은 농도로 상용하고 있으나, 여드름이나 기타 피부질환에 임상적으로 응용하기 위해서는 비교적 고농도의 사용이 불가피하며 그에 따른 피부 자극성이 늘 문제점으로 제기되어 왔다.

Glycolic acid의 피부 자극성은 구조적으로 볼때 분자 내에 가지고 있는 카르복실기에 기인하는 것으로 생각되며, 이것은 glycolic acid 10% 용액의 pH가 2 이하인 것으로 부터도 알수 있다. 따라서, 본 연구에서는 glycolic acid의 카르복실기에 ethyl기를 도입하여 에스테르화함으로써 그 산성으로 인한 자극을 줄이고자 하였으며,

생성된 ethyl glycolate는 피부를 통과하면서 피내에 존재하는 esterase에 의해 가수분해되면서 원래의 모약물인 glycolic acid를 서서히 유리시킬 수 있을 것으로 기대되어, 그에 따른 *in vitro* 경피투과성 및 국소독성을 평가하고자 하였다. 즉, glycolic acid가 가지는 피부자극성을 줄임과 동시에 경피투과성을 개선시킨 경피형 프로드럭으로서의 ethyl glycolate의 특성을 연구하였으며, 얻어진 다소의 지견을 이에 보고하고자 한다.

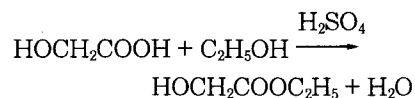
실험방법

시약 및 기기

본 실험에서 사용한 시약은 Glycolic acid(Merck Co., Germany), Sodium glycolate (Chung San Co., Korea), Tetrabutylammonium hydroxide(G. R.Fluka Chem. Co. Switzerland)등이며 기타의 시약은 특급 또는 일급시약을 사용하였다. 사용된 기기는 HPLC(Pump: Waters 510, U.S.A, Detector: Waters 484, U.S.A, Intergrator: Shimadzu C-R 6A, Japan), FT-IR spectrometer (Model Magna-750, Nicolet, U.S.A.), ¹H-NMR spectrometer (Model AC-200F, Bruker, Germany, 200 MHZ), GC-MS spectrometer(TSQ 700, Finigan mat., U.S.A.), UV/Vis spectrophotometer(UV 240, Shimadzu, Japan), Diffusion cell (Horizontal Type, Korea)등이다.

Ethyl glycolate의 합성

Ethyl glycolate의 합성은 alcohol과 산에 의한 Fischer esterification 원리¹⁹⁻²²(Scheme I)에 따라 three-necked flask에서 glycolic acid 40g(0.526 mole)을 ethanol 100 ml(1.713 mole)에 녹인후 sulfuric acid 40 ml을 소량씩 가한 뒤 70°C에서 1시간 동안 교반하여 반응시킨 뒤 반응액을 30°C이하로 냉각한 후 dichloromethane 500 ml로 3회 추출하고 추출액을 35°C 이하에서 감압 농축시켜 합성물을 얻었다.



Scheme I — Synthetic pathway of ethyl glycolate.

Ethyl glycolate의 확인 및 분석조건

ethyl glycolate의 합성을 확인하기 위해 UV, IR, H^1 -NMR, GC-Mass spectroscopy를 행하였으며 HPLC를 이용하여 반응물인 glycolic acid와 생성물인 ethyl glycolate를 분석하였다. 즉, column은 μ -Bondapak C_{18} , 25 cm \times 4.0 mm, 유속은 1.0 ml/min, 검출과장은 UV 203 nm, 감도는 0.01 AUFs, 주입량은 20 μ l이었으며, 이동상은 glycolic acid의 경우 인산용액을 가해 pH를 5.8로 조정한 0.005 M tetrabutylammoniumhydroxide 용액, ethyl glycolate의 경우 물을 사용하였다. 별도로 검량선을 작성하기 위해 glycolic acid 및 ethyl glycolate 농도가 각각 10, 50, 100, 500, 1,000 μ g/ml이 되도록 증류수에 녹여 조제한 뒤 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 HPLC로 정량하였다.

In vitro 경피 투과 실험

실험동물로는 체중 20 ± 2 g의 nude mouse(BALB-c species)를 삼육 동물 연구소에서 구입하여 암수 구별없이 사용하였다. 실험 기간동안 고형사료 및 물은 자유롭게 섭취할 수 있게 하였으며 사육실내 온도는 $20\pm 2^\circ C$, 상대습도는 $50\pm 10\%$ 로 유지하였다. 실험에 사용한 nude mouse의 피부는 상처나 긁힌 흔적이 없는 것으로 선택하였으며 경추탈구하여 치사시킨 후 등쪽 피부만을 벗겨내고 여기에 붙어 있는 지방층은 $36^\circ C$ 로 가온한 0.9% NaCl용액에서 제거하여 일정두께의 것을 사용하였다. 전처리한 피부를 horizontal diffusion cell에 피부의 표면이 donor쪽을 향하도록 장치하였다. Donor쪽에는 glycolic acid와 ethyl glycolate를 glycolic acid로서 1%(131.5 mM)에 해당하도록 증류수로 희석하여 조제한 것을 5 ml씩 넣고 receptor쪽에는 0.9% NaCl 용액 5 ml를 넣어 $37\pm 0.5^\circ C$ 수욕상에서 200 rpm으로 magnetic bar를 회전시키면서 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 21시간마다 microsyringe를 이용하여 receptor쪽에서 0.2 ml씩 정확히 취하고 acetonitrile 0.8 ml씩을 가하여 제단백하여 검액으로 하였으며, 매회 채취 후 0.9% NaCl용액 동일량을 보충하였다. 이때 확산에 유효한 피부면적은 약 1.766 cm 2 이었으며, 모든 검액은 vortex mixer로 1분간 진탕한 후, 3500 rpm으로 원심분리하였고 상등액을 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과하여 그 여액을 HPLC로 정량하였다. 한편 donor에서의 각 약물의 농도 변화를 관찰하기

위해 별도의 시료 채취를 donor쪽에서만 하여 정량하였다. 각 테이타의 통계처리한 수치는 산술 평균 표준오차(S.E.)로 표시 하였으며 각 군간의 차이에 관한 검정은 paired Student's t-test를 행하여 $p<0.05$ 와 $p<0.01$ 에서 유의성 검증을 하였다.

Ethyl glycolate의 수용액에서의 안정성

경피투과실험에서 nude mouse 피부의 가수분해 효소 이외의 다른 요인인 용매로 사용된 수용액에서의 ethyl glycolate의 가수분해 여부를 확인하고자 각 온도에서의 안정성을 관찰하였다. Ethyl glycolate를 1% 수용액으로하여 시료로 사용하였으며, $25^\circ C$, $40^\circ C$, $50^\circ C$, $60^\circ C$ 의 온도에서 2, 6, 12, 24시간마다 일정량의 시료를 취하여 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과하고 HPLC로 분석하여 ethyl glycolate의 온도에 대한 시간별 농도변화를 관찰하였다.

피부 자극 시험

합성된 ethyl glycolate의 국소독성을 평가하기 위해 의약품등의 독성 시험 기준(국립 보건 안전 연구원 예규 제 10호, 1988. 10. 29.) 제 12조에 의거하여 국립 보건 안전 연구원 표준작업 방법서(S.O.P.)에 따라 실험을 하였다. 실험동물은 1군당 건강한 수컷의 성숙한 토끼(체중 2.5kg ~ 3.5 kg) 6마리를 사용하였으며 실험중 고체 사료와 물을 자유롭게 먹게 하였다. 시료로는 glycolic acid, ethyl glycolate를 증류수에 녹여 각각 10%용액으로 하여 사용하였다. 따로 시료조제에 사용한 용매를 대조구획에 사용할 시료로 하였으며, 토끼의 제모된 등피부를 좌우로 나누어 좌를 투여구획, 우를 대조구획으로 하고 찰과피부와 비찰과피부가 서로 대각선으로 분포하도록 구분하여 건강피부 2개소와 찰과피부 2개소로 하였다. 피부반응의 정도는 투여 후 24시간, 72시간째에 관찰하였으며, 홍반과 가피형성, 부종형성의 정도에 따라 0 ~ 4등급으로 채점하여 각 평균의 합계로부터 피부일차자극지수(Primary Irritation Index: P.I.I.)를 구하여 비교하였다.

안점막 자극 시험

의약품등의 독성 시험 기준(국립 보건 안전 연구원 예규, 1988. 10. 29.) 제 12조에 의거하여 국립 보건 안전 연구원 표준작업 방법서(S.O.P.)에 따라 안점막자극 실험을 하였다. 한 군당 토끼(체중 2.5 ~ 3.5kg) 6마리

를 가지고 실험하였으며, 실험도중 고휘사료와 물은 자유롭게 먹게 하였다. 시료로는 glycolic acid, ethyl glycolate를 각각 생리식염액에 녹여 10%용액으로 조제하여 사용하였으며 기타의 조건은 국립보건안전연구원의 표준작업방법서에 따라 실험하였었다. 각각 맛 흥취는 관찰하기 어려워 결막에 대해서만 관찰하였다. 시료적용 후 24시간 뒤에 결막의 발적, 부종 및 배출물 유무의 변화를 육안으로 관찰하여 안구병변의 등급에 의해 평점을 기록하여 비교하였다.

농도별 안점막 자극 시험 및 pH 측정

국소독성 시험에서는 일정농도의 시료로서 그 자극 유무를 관찰하였으나 각 약물의 농도에 따른 안점막 자극 정도와 그 때의 pH 값을 비교하기 위해 본 실험을 행하였으며, 한 군당 토끼(체중 2.5~3.5 kg) 2마리씩을 사용하였다. 또 안점막 자극과 각 약물의 pH와의 상관관계를 알아보고자 각 농도별 시료의 pH를 측정하였다. 시료로는 glycolic acid, ethyl glycolate, sodium glycolate를 각각 생리식염액으로 희석하여 0.5%, 1%, 3%, 5%, 7%, 10%용액으로 조제하여 시료로 하여 사용하였으며 겹چه 투여는 안점막자극시험과 동일한 방법으로 하였고 시료의 적용 후 24시간 뒤에 안구의 충혈, 부종, 염증상태를 좌측눈을 대조로 하여 관찰하였다.

결과 및 고찰

Ethyl glycolate의 합성 및 구조확인

최종 합성물의 성상은 무색의 액상체로 수득율은 약 50% 이었다. Ethyl glycolate의 UV, IR, NMR 및 MS spectroscopy에서의 특징적인 peak는 다음과 같다. UV: λ_{\max} (water): 205 nm, IR(ν_{\max}^{KBr} , cm^{-1}): 3400~3000 (-OH), 1748 (ester -C=O), NMR (DM-SO d_6 , δ =ppm): 1.18 (t, $J=7.1$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 3.98 (broad -d, $J=6.6$ Hz, $\text{HO}-\text{CH}_2$), 4.09 (q, $J=7.1$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 5.28 (broad -s, $\text{HO}-\text{CH}_2$), GC-MS(m/e): 104.1

Glycolic acid의 경피투과성

Receptor에서 glycolic acid 농도를 정량한 결과 6시간까지는 거의 glycolic acid가 검출되지 않았으나 8시간째 부터는 정량이 되었고 그 후 시간 경과에 따라서

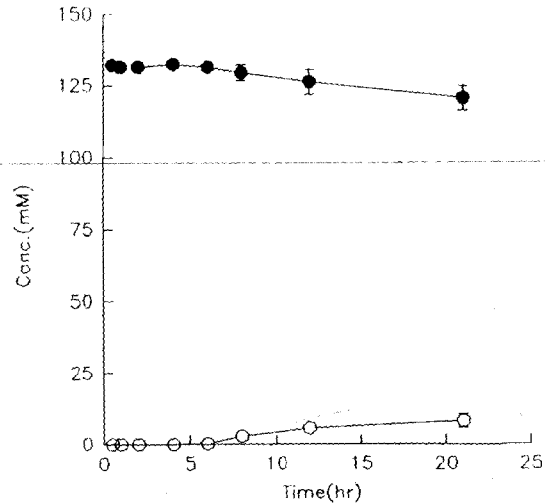


Fig. 1—Glycolic acid concentration changes in receptor (○) and donor (●) compartment as a function of time by diffusion study of glycolic acid at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ through nude mouse skin. Data are expressed as mean \pm S.E. (n=4).

서히 농도가 증가하는 양상을 보였으며 최종 21시간에서는 약 8.3 mM이 투과되어 이는 처음 농도 131.5 mM에 대해 약 6.3%가 투과된 것이다(Fig. 1).

Donor에서 glycolic acid를 정량한 결과 8시간까지는 초농도 131.5 mM을 거의 유지하다가 서서히 감소되어 21시간째에는 120.7 mM 정도까지 감소되었다. 앞서 receptor쪽에서 glycolic acid를 정량한 결과와 비교해보면 donor쪽 감소와 receptor쪽 증가 양상이 거의 일치 하는 것으로 해석되었다.

Ethyl glycolate의 경피투과성

Receptor에서 glycolic acid로서 분석한 결과 glycolic acid의 농도가 시간에 따라 직선적으로 증가하였으며 최종 21시간에서는 그 농도가 40 mM로서 초농도 131.5 mM에 대해 약 30.4%가 투과되었다(Fig. 2). 또한 receptor쪽에서 glycolic acid가 확인됨으로 인해 ethyl glycolate가 nude mouse의 피부내 esterase에 의해 모약물인 glycolic acid로 전환되었음을 알 수 있었다.

receptor에서 ethyl glycolate로 정량한 결과 ethyl glycolate의 농도도 시간에 따라 직선적으로 증가하는 양상을 보였으며 최종 21시간에서의 농도가 41.8 mM로서 glycolic acid와 비슷한 양이 투과된 것으로 확인되었다. 따라서 ethyl glycolate가 경피투과될 때 모두 glycolic acid로 가수분해 되지 않고 일부는 ethyl

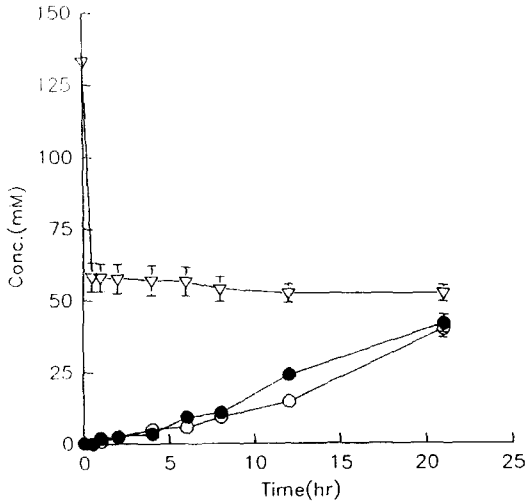


Fig. 2 — Glycolic acid and ethyl glycolate concentration changes in receptor and donor compartment as a function of time by diffusion study of ethyl glycolate at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ through nude mouse skin. Data are expressed as mean \pm S.E. (n=4).
 ○ : Glycolic acid (Receptor compartment)
 ● : Ethyl glycolate (Receptor compartment)
 ▽ : Ethyl glycolate (donor compartment)

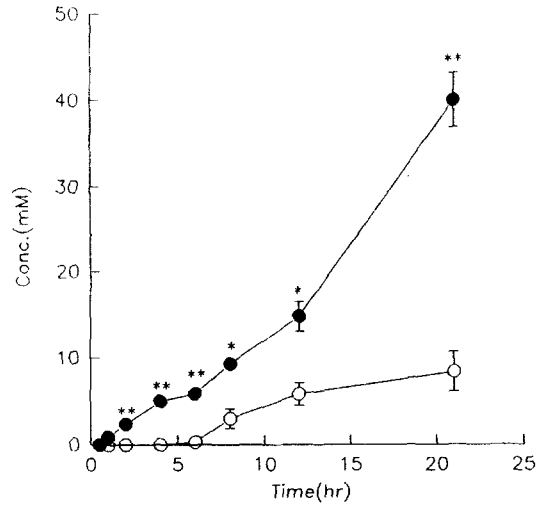


Fig. 3 — Glycolic acid concentration changes in receptor compartment as a function of time in comparative diffusion study of either glycolic acid (○) or ethyl glycolate (●) at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ through nude mouse skin. Data are expressed as mean \pm S.E. (n=4).
 * : Significant compared to glycolic acid (p<0.05)
 ** : Significant compared to glycolic acid (p<0.01)

glycolate 자체로 투과되는 것으로 해석되었다.

Donor 쪽에 남아있는 ethyl glycolate의 농도는 30분 만에 초기농도(131.5 mM)의 반이상이 감소된 58.3 mM로 되었고 그 후로는 서서히 감소하여 최종 21시간에서는 52.4 mM이었다. 앞서 receptor compartment에서 정량한 결과와 비교 해볼때 초기 30분에 donor 쪽에서 급격히 감소한 농도가 receptor 쪽에서 나타나지 않으므로, 이 감소된 양이 nude mouse 피부에 머물러 있을 것이라 사료된다. 또 시간에 따라 서서히 donor 쪽의 감소된 농도와 receptor 쪽에서 나타난 농도가 거의 일치하였는데, 이는 피부에 머물러 있던 약물이 서서히 receptor compartment로 용출되어 나온 것으로 사료된다.

Receptor에서의 glycolic acid 농도 비교

Glycolic acid 경피투과 실험 21시간후 receptor 쪽에서 glycolic acid 농도는 약 8.3 mM로 나타났으나, ethyl glycolate 경피투과 실험 21시간후의 receptor 쪽 glycolic acid의 농도는 약 40 mM로서, 약 5배 정도의 차이를 나타내었다. (Fig. 3) 이는 glycolic acid의 극성기가 ester로 치환되므로서 극성이 감소하고 지용

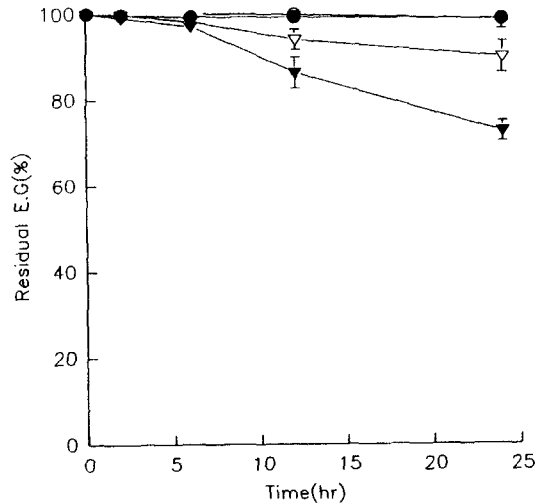


Fig. 4 — Plot of residual ethyl glycolate concentration as a function of time in aqueous solution at 25°C (○), 40°C , 50°C (▽) and 60°C (▼). Data are expressed as mean \pm S.E. (n=4).

성이 증가하였기 때문인 것으로 사료된다.

Ethyl glycolate의 수용액에서의 안정성

실온, 40°C 에서는 24시간까지 ethyl glycolate의 분해가 거의 없는 것으로 확인되었으나, 50°C 에서부터는

Table I— The irritation score of skin reaction after administration of glycolic acid

Rabbit No.	Control								Glycolic acid								
	erythema & eschar				edema				erythema & eschar				edema				
	intact		abraded		intact		abraded		intact		abraded		intact		abraded		
	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2	0	1	0	2	1
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	1	0	0	1	0
3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	4	1	2	0	1	0
4	1	0	0	0	0	1	0	1	1	3	1	2	0	1	1	2	1
5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
sum	2	0	1	0	0	1	1	1	11	2	13	2	5	1	6	2	
mean	0.33	0	0.17	0	0	0.17	0.17	0.17	1.83	0.33	2.17	0.33	0.83	0.17	1	0.33	
sum of mean	1.01								6.99								
P.I.I.*	0.25								1.78								

* P.I.I. (Primary Irritation Index) was calculated by sum of mean/4

Table II— The irritation score of skin reaction after administration of ethyl glycolate

Rabbit No.	Control								Ethyl glycolate							
	erythema & eschar				edema				erythema & eschar				edema			
	intact		abraded		intact		abraded		intact		abraded		intact		abraded	
	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h
1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
5	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
sum	2	0	1	0	2	0	1	0	2	1	1	0	2	1	2	1
mean	0.33	0	0.17	0	0.33	0	0.17	0	0.33	0.17	0.17	0	0.33	0.17	0.33	0.17
sum of mean	1.0								1.67							
P.I.I.*	0.25								0.42							

* P.I.I. (Primary Irritation Index) was calculated by sum of mean/4

분해가 관찰되었고, 60°C에서는 ethyl glycolate의 분해량이 가장 증가되었음을 알 수 있었다(Fig. 4). 이 결과로 ethyl glycolate는 온도가 증가될수록 수용액에서의 분해량이 커짐을 알 수 있었으나, 경피투과실험을 행한 37±0.5°C의 온도에서는 수용액에 의한 가수분해는 거의 없었음을 확인할 수 있었다.

피부 자극성

국립 보건 안전 연구원에서 정한 피부 자극시험 성적 평가방법에 따라 일차자극지수(P.I.I.)값이 0~0.5 일때는 비자극성, 0.6~2.0은 약한 자극성, 2.1~5.0은 중등도 자극성, 5.1 이상은 강한 자극성으로 평가하였다. Glycolic acid 투여군의 P.I.I.값은 1.748로서 피부일차 자극표에 의해 약한 자극성으로 판정되었으나 ethyl

glycolate 투여군은 0.418로서 비자극성으로 판정되었다. 또한 대조군의 자극 지수도 각각 0.253, 0.25로서 비자극성으로 나타났다.(Table I, II) 이상의 결과로서 ethyl glycolate는 glycolic acid와 비교할때 피부에 대한 자극이 현저히 저하된 것을 알 수 있었다.

안점막 자극성

안점막에 10% glycolic acid, 10% ethyl glycolate를 각각 점안한 후 안점막 반응 평점표에 의해 채점한 결과(Table III), glycolic acid 투여군에서는 결막 자극 점수가 16.3이었으나 ethyl glycolate 투여군의 자극 점수는 1.67이었다. 결막 자극 점수의 최대치가 20점인 것을 감안할때 ethyl glycolate는 glycolic acid보다 결막에 대한 자극 점수가 현저히 줄어든 것으

Table III—The irritation score of rabbit eye conjunctiva after administration of 10% glycolic acid and ethyl glycolate

Rabbit No.	Glycolic acid			Total score ^{d)}	Rabbit No.	Ethyl glycolate			Total score ^{d)}
	RD ^{a)}	ED ^{b)}	EX ^{c)}			RD ^{a)}	ED ^{b)}	EX ^{c)}	
1	3	3	2	16	7	0	0	0	0
2	2	2	3	14	8	0	0	0	0
3	2	3	3	16	9	0	1	0	2
4	3	4	3	20	10	1	0	0	2
5	3	2	3	16	11	0	0	0	0
6	3	3	2	16	12	1	1	1	6
			Sum	98				Sum	10
			Mean	16.3				Mean	1.67

^{a)} redness; ^{b)} edema; ^{c)} exudate; ^{d)} Total score was calculated by 2×(RD score+ED score+EX score).

Table IV—pH values of aqueous solution of glycolic acid, ethyl glycolate and sodium glycolate in different concentrations

Conc.	Glycolic acid	Ethyl glycolate	Sodium glycolate
0 ~ 5%	2.43	3.47	6.63
1%	2.21	3.14	7.21
3%	1.94*	2.92	7.79
5%	1.85**	2.80	8.35
7%	1.76***	2.74	8.40

* : mild redness in rabbit eye.

** : moderate redness in rabbit eye.

*** : severe redness, conjunctival edema and exudate in rabbit eye.

로 평가되었다.

각 약물의 농도별 안점막자극과 pH와의 상관관계

Glycolic acid는 3% 이상의 농도에서부터 토끼의 눈에 충혈을 일으키기 관찰되었고 농도가 높을수록 충혈의 정도가 심했으며 7%, 10% 투여군에서는 심한 충혈과 부종, 황색 분비물이 관찰되었다. 그러나 ethyl glycolate, sodium glycolate 투여군에서는 모든 농도에서 충혈이나 분비물이 전혀 관찰되지 않았다. 즉, glycolic acid는 3% 이상에서 안점막 자극을 유발하나 ethyl glycolate은 0.5 ~ 10%사이의 농도에서 전혀 자극을 일으키지 않음을 알 수 있었다. 한편 안점막 자극과 약물의 pH와의 상관 관계를 규명하고자 각 약물용액의 농도별 pH를 측정된 결과(Table IV), glycolic acid는 자극을 유발했던 3 ~ 10%의 농도의 pH가 2.0이하로 나타났으나 ethyl glycolate와 sodium glycolate는 전 농도의 pH가 2.7이상이었다. 즉 ethyl glycolate는 가장 낮은 pH를 나타내는 10%용액의 pH가 자극을 처음 유발한

glycolic acid 3%용액의 pH보다 산성이 더 약함을 알 수 있었으며 이를 볼때 ethyl glycolate는 glycolic acid의 pH보다 상대적으로 높기 때문에 0.5 ~ 10% 사이의 전 구간의 농도에서 자극을 주지 않은 것으로 사료된다. 결과적으로 glycolic acid의 안점막에 대한 자극은 그 자신의 강산성의 pH에 기인한 것으로 생각할 수 있었다.

결 론

Sulfuric acid 산성에서 glycolic acid에 ethanol을 반응시켜 ethyl glycolate를 합성할 수 있었다. Ethyl glycolate는 nude mouse skin 투과 실험에서 피부내 esterase에 의해 모약물인 glycolic acid로 생체내 전환됨이 확인되었으며, receptor쪽에서의 ethyl glycolate와 glycolic acid의 농도는 시간에 따라 서서히 증가되었다. Ethyl glycolate는 glycolic acid보다 경피 투과성이 더 높았으며, glycolic acid에 비해 피부 및 안 점막에 대한 자극이 현저히 줄어든 것을 국소자극 시험을 통해 알 수 있었다.

결론적으로 glycolic acid를 분자수식한 ethyl glycolate는 glycolic acid의 부작용인 피부자극을 현저히 개선시켰으며 피부투과성도 증가되었음을 알 수 있었고 향후 피부 과각화에 기인한 피부질환에 임상적으로 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

문 헌

- 1) Guenther, E., Raffael, B., and Heinz, O. : Use of poly(glycolic acid) and its derivatives as nu-

- cleating agents. *Eur. PAT. appl.* 16pp, EP 446852 AZ Sep. 18. (1991).
- 2) Vladimir, G., Jan, V. and Pavel, S. : Use of low-solubility salts of cellulose glycolic acid in preparation of coated fertilizers. *Chem. Prum.* **37**, 524 (1987).
 - 3) Lin, T. J. : Aminophylline と AHA. *Fragrance Journal* **154**, 2 (1994).
 - 4) Rolland, A., Wagner, N., Chatelus, A., Shroot, B. and Scheafer, H. : Site-specific drug delivery to pilosebaceous structure using polymeric microsphere. *Pharm. Res.* **10**, 1738 (1993).
 - 5) Sinclair, R. G. : Slow-release pesticide system, Polymers of lactic acid glycolic acids as ecologically beneficial, cost effective encapsulating materials. *Environ. Sci. Technol.* **7**, 955 (1973).
 - 6) Deasy, P. B. : Microencapsulation and related drug processes. Marcel Dekker, New York, U.S.A., p. 219 (1984).
 - 7) Bundgaard, H. : Design of prodrugs. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands, p.1 (1985).
 - 8) Van Scott, E. J. and Yu, R. J. : Hyperkeratinization corneocyte cohesion and alpha hydroxy acids. *J. Am. Acad. Dermatol.* **11**, 867 (1984).
 - 9) Van Scott, E. J. and Yu, R. J. : Control of keratinization with alpha hydroxy acids and related compounds: Topical treatment of ichthyotic disorders. *Arch. Dermatol.* **110**, 586 (1974).
 - 10) Gunther, S. H. : Vitamin A acid in the treatment palmoplantar kerato-derma, *Arch. Dermatol.* **106**, 854 (1972).
 - 11) Salas, M. L. and Vinueia, E. : Citrate inhibition of phosphofructokinase and the Pasteur effect. *Biochem. Biophys. Res. commun.* **19**, 371 (1965).
 - 12) Ichihara, A. and Greenberg, D. M. : Studies on the purification and properties of D-glyceric acid kinase of liver. *J. Biol. Chem.* **225**, 949 (1957).
 - 13) Sheffner and Leonard, A. : Topical application of thioglycolic acid in treatment of acne, United States Patent, US 4,107,330., 4pp. Aug. 15 (1978).
 - 14) Van Scott, E. J. and Yu, R. J. : Alpha hydroxy acids: Procedures for use in clinical practice. *Cutis* **43**, 222 (1989).
 - 15) Van Scott, E. J. and Yu, R. J. : Commentary. Ichthyosis and keratinization. *Arch. Dermatol.* **118**, 860 (1982).
 - 16) Frost, P. and Van Scott, E. J. : Ichthysiform dermatoses. *Arch. Dermatol.* **94**, 113 (1966).
 - 17) Van Scott, E. J. : Dry skin et cetera: corneocyte detachment, desquamation, and neostrata. *Int. J. Dermatol.* **26**, 90 (1987).
 - 18) Van Scott, E. J. and Yu, R. J. : Treatment of acne and dendruff. U.S. Patent, US 4,105,782 Aug. 8 (1978).
 - 19) McDermott, F. A. : Org. Syntheses, Coll. Vol.II, p. 365 (1943).
 - 20) Huntress, E. H. Lesslie, T. E. and Bornstein, J. : Org. Syntheses, Coll. Vol.IV, p. 329 (1963).
 - 21) Unterhalt, B. and Thamer, D. : Nitraza-alkans uren und ihre Derivate. *Arch. Pharm.* **308**, 954 (1975).
 - 22) Boutevin, B. and Pietrasanta, Y. : Telomerisation par catalyse redox-VI: Transformation chimique des telomeres du chlorotrifluoroethylene. *Eur. Polym. J.* **12**, 231 (1976).