

## 아스코르빈산 팔미테이트를 함유한 리포겔의 피부 투과 및 잔류 특성

이상길 · 우혜승 · 이연아\* · 권용남\* · 최영욱†

중앙대학교 약학대학 \*(주) 코스메디  
(2001년 9월 17일 접수)

### Skin Penetration and Localization Characteristics of Lipogel Containing Ascorbyl Palmitate

Sang Kil Lee, Hye Seoung Woo, Yeon Ah Lee\*, Yong Nam Kwon\* and Young Wook Choi†

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

\*Cosmedi Co. Ltd., Gochuck-2dong, Kuro-gu, Seoul 152-082, Korea

(Received September 17, 2001)

**ABSTRACT**—The present study was carried out to observe the effect of liposome dispersed gel formulation (Lipogel) on topical delivery of ascorbyl palmitate (AsP). Neutral and negatively charged MLV liposomes containing AsP were prepared with dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) and dicetyl phosphate (DCP), and dispersed to poloxamer gel matrix. In the hydrolysis study in rat's skin homogenates, AsP hydrolyzed to ascorbic acid (AsA) according to the first-order kinetics with the rate constant of  $2.46 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ . In the passive skin penetration study using Franz diffusion cell, lipogel systems exhibited the greater values in the flux ( $J_s$ ) and the amount penetrated ( $Q_p$ ) compared to control hydrogels containing diethyleneglycol monoethyl ether (Transcutol®) as a solubilizing agent and a penetration enhancer for AsP. The total amount penetrated ( $Q_{\text{Total}}$ ), which is expressed as a summation of  $Q_p$  and  $Q_L$ , for lipogel system was about 1.4 times higher in average than that of control hydrogel. However the amount localized in the skin ( $Q_L$ ) was similar in both formulations. As a result, lipogel system enhanced the skin penetration of AsP, possibly due to the increase in local concentration of AsP by preferential adsorption of liposome to the skin and the enhancing effect of phospholipid in liposome composition. Moreover it was expected that the penetrated AsP would generate AsA during skin penetration by the skin esterase. In conclusion, lipogel formulation was considered as a good candidate for topical delivery of AsP.

**Keywords**—Ascorbic acid, Ascorbyl palmitate, Liposome, Lipogel, Skin penetration, Skin localization, Hydrolysis

Ascorbyl palmitate(AsP)는 ascorbic acid(AsA)의 prodrug으로써 모약물(parent drug)에 비하여 안정성도 상대적으로 높고 지용성인 특성으로 인하여 외용제로 제제화 하기에도 유리한 점이 있어<sup>1,2)</sup> 많은 연구가 진행되어 왔다. AsA는 멜라닌 합성을 억제하고 콜라겐 합성을 증진하며 프리라디칼의 형성을 억제하는 대표적인 항산화제로써 피부 노화억제와 미백작용과 같은 항산화효과<sup>1,2)</sup>와 함께 식품 또는 다양한 오일류의 산패방지목적<sup>3-5)</sup> 등에 주로 이용되어 왔으나, 공기 중에서 산화되어 쉽게 분해되며,<sup>2,6,7)</sup> 빛, 용존산소, 구리 또는 중금속들에 의해 산화가 더욱 촉매되어 제제화에 어려움이 많은 물질이다.<sup>6,8,9)</sup>

약물의 경피투과도를 증진시키기 위하여 흡수촉진제와 같은 화학적 경피투과 촉진기법과, iontophoresis나 electropo-

ration과 같은 전기적 도움에 의한 물리적 경피투과 촉진기법들이 많이 이용되고 있으며,<sup>10)</sup> 인지질을 이용한 리포솜, 비이온성 계면활성제를 이용한 니오솜과 같은 약물수송체를 이용하여 피부장벽을 극복하려는 연구들이 많이 시도되고 있다. 이 중 리포솜은 항암제, 항생제, 항진균제와 같은 약물의 주사제 제형에 오래전부터 연구되어 왔으나 국소 또는 경피투과를 높이기 위한 제형연구는 1980년대 초반부터 시도되었다.<sup>11-13)</sup> 일반적으로 리포솜과 같은 lipid vesicle을 국소 전달시스템으로 사용하는 이유는 i) 난용성 약물을 가용화시킬 수 있으며 ii) 국소 부위에서 약물의 저장소 역할을 하여 지속방출을 시킬 수 있고 iii) 인지질이 피부 각질층과 진피층에 흡수촉진제로 사용되어 국소전달을 용이하게 할 수 있기 때문인 것으로 알려져 있다.<sup>11)</sup>

이에 본 연구에서는 피부내에 존재하는 에스터라제에 의한 AsP의 가수분해특성과 함께 AsP를 봉입한 리포솜을 플록사머 겔 매트릭스에 분산시켜 제조한 리포겔 제제의 피부

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 02)820-5609, E-mail : ywchoi@cau.ac.kr

투과 및 잔류특성을 관찰함으로써 AsA를 국소부위에 지속적으로 전달해 줄 수 있는지의 여부를 평가하고자 하였다.

## 실험방법

### 시약

AsA는 Dakeda사 (Japan)에서 원료를 구입하여 사용하였고, diethyleneglycol monoethyl ether(Transcutol®)는 Gattefossé(France)에서, poloxamer 407은 BASF(Germany)에서, dimyristoylphosphatidylcholine(DMPC), dicetylphosphate(DCP)는 Sigma(U.S.A.)에서 구입하였고, HPLC용 아세트니트릴은 Merck(Darmstadt, FRG)에서 구입하였으며, 기타 시약류는 시판되는 특급 또는 일급시약을 그대로 사용하였다.

### 피부균질액중에서 AsP의 가수분해 실험

**피부 균질액의 제조** - Ahmed 등<sup>14)</sup>의 방법에 의하여 체중 120±10 g의 수컷 Sprague Dawley 계열 흰쥐를 디에틸에테르로 마취시키고 등의 털을 제모기를 사용하여 제거한 뒤 잔털은 피부에 손상이 가지 않도록 면도기로 제모하였다. 등 피부를 적출한 후 피하지방과 혈관을 제거하고 피부의 무게를 측정된 뒤 피부의 5배량의 Tris buffer를 가하여 30분간 균질화 하였다. 4°C, 10,000 g의 조건에서 20분간 원심분리(Ecospin 314, Hanil R&D, Korea)한 뒤 상정액을 취하여 다시 4°C, 100,000 g의 조건에서 1시간 동안 초원심분리(Centrifon T-1170, Kontron Inc., Italy)한 뒤 상정액을 취하여 에스터라제가 함유된 피부 균질액을 제조하였다.

**가수분해 실험** - AsP의 가수분해 실험은 37°C가 유지된 교반 항온조에서 실시하였다. AsP 원액(100 µg/ml) 0.1 ml을 피부 균질액 4 ml에 가하고, 정해진 시간 간격으로 시료 0.2 ml을 채취한 뒤 0.01 M phosphoric acid 0.1 ml을 가하여 반응을 종결 시켰으며, 3,000 rpm에서 5분간 원심분리한 뒤 상정액을 0.45 µm filter로 여과하여 잔존하는 AsP를 정량하였다.

### AsP의 정량

다음과 같은 조건에서 AsP와 AsA에 대한 동시분석조건을 설정하였다. HPLC는 TSP(Spectra system gradient pump, UV 1000 detector, U.S.A.), 분석컬럼은 normal phase µ-Bondapak(Li-NH<sub>2</sub>, 3.9×300 mm, 10 µm)을 사용하였고 이동상은 MeOH : phosphate buffer(0.02 M, pH 3.5) = 70 : 30 (v/v)로 하였으며, 검출파장은 255 nm, 주입용량은 20 µl, 유속은 1 ml/min로 하였다. 이때 AsP와 AsA의 RT는 각각 4.8분, 6.2분이었으며, 농도범위 1~20 µg/ml에서 검량선을

작성하였을 때 높은 직선성(R<sup>2</sup>=0.999)을 나타내었다.

### 리포솜의 제조 및 평가

Bangham 등<sup>15)</sup>의 방법에 따라 multilamellar vesicle을 제조하였으며, 중성 리포솜은 DMPC 단독으로 제조하였고, 음전하 리포솜은 DCP를 10%와 20%씩 첨가하여 제조하였다. 먼저 지질 67.79 mg과 AsP 50 mg을 정밀히 칭량하여 클로로포름에 녹이고 상전이 온도 이상에서 회전 감압농축기(Eyela, Tokyo Rikakikai Co., Japan)로 감압증류하여 등근 플라스틱 기벽에 얇은 인지질 피막을 형성시킨 뒤 잔류 클로로포름은 질소로 제거하였다. 인지질 피막을 3시간 동안 incubation 시킨 뒤 pH 3.5 완충액 5 ml을 가하여 5분간 shaking하고 수화시켜 리포솜을 제조하였다.

**리포솜의 입도 및 표면전하량 측정** - 제조된 리포솜의 평균 입자도는 dynamic light scattering system(LPA PAR III, Ostuka Electronics, Japan)을 이용하여 25°C에서 scattering angle 90°의 조건으로 측정하였으며, 입자도의 측정 범위는 3 nm~5 µm 범위로 하였다.

**약물의 봉입률 측정** - Sephadex G-25 컬럼을 이용한 gel filtration에 의해 리포솜에 봉입되지 않은 약물을 분리하였으며, 분리된 유리약물과 리포솜에 봉입된 약물은 HPLC로 정량하였다. 리포솜에 봉입된 약물의 경우 Triton-X 100 5% 용액으로 처리하여 HPLC로 정량하였으며, 총 가한 약물에 대한 봉입된 약물의 비로 봉입률을 산출하였다.

### 리포겔 및 대조용겔의 제조

**리포겔의 제조** - 미리 팽윤시켜 놓은 poloxamer 407 고분자 겔 매트릭스에 약물을 함유한 리포솜 현탁액을 넣고 ice bath에서 4°C를 유지하면서 균질 분산시켜 제조하였으며, 최종 약물의 함량은 0.2%, 고분자의 함량은 20%가 되도록 제조하였다.

**대조용겔의 제조** - 대조용겔은 ice bath에서 4°C를 유지하면서 적당량의 증류수에 poloxamer 407을 팽윤시키고 AsP의 용해보조제겸 경피흡수촉진제로써 diethyleneglycol monoethyl ether(Transcutol®)를 5%, 10%, 20% 첨가한 뒤 AsP를 가하여 약물이 완전히 녹을 때까지 교반하고 하룻밤 숙성시켜 겔제를 제조하였으며, 리포겔과 마찬가지로 최종 약물의 함량은 0.2%, 고분자 함량은 20%로 하였다.

### 피부투과 실험

피부균질액의 제조시와 같은 방법으로 등 피부를 적출한 후 피하지방과 혈관을 제거하여 실험 전 까지 -70°C deep freezer에 보관하였다가 실험직전에 생리 식염수액에 담그어

상온에서 서서히 해동시켜 사용하였다. 샘플 채취시간은 5분, 10분, 15분, 20분, 30분, 45분, 60분으로 하였고, 제제의 loading양은 1g으로 하였으며, receptor 매질은 AsP의 용해도를 고려하여 pH 7.0 인산완충액 : 에탄올 = 70 : 30 (v/v) 용액을 사용하였다. Franz 확산셀의 유효확산 면적은 2.0 cm<sup>2</sup> 이었으며, 실험 전 미리 circulator를 이용하여 확산셀 내의 온도를 37±0.5°C를 유지하고 spin bar를 이용하여 receptor 측의 약물농도를 균질하게 유지시키면서 일정시간 마다 시료를 채취하여 HPLC로 분석하였고, 매회 채취시 동량의 receptor 매질을 보충해주었다. 이 때 약물의 피부투과량(Q<sub>p</sub>)은 수화시킨 full-thickness rat skin의 단위면적당 약물의 양(μg/cm<sup>2</sup>)으로 계산한 뒤 해당 약물의 분자량으로 나누어 mmol/cm<sup>2</sup>로 나타내었으며, 모든 측정치는 평균±표준편차로 나타내었고 Student's *t*-test를 통해 유의성을 검정하였다.

**약물의 피부잔류량 측정**

피부투과 실험 직후 donor측의 제제를 제거하고 생리식염수를 이용하여 피부를 충분히 씻어낸 후 겔이 직접 loading된 부분의 피부만을 절제한 후 분쇄전까지 -70°C deep freezer에 보관하였다. 약물의 잔류량을 측정하기 위하여 피부를 해동하여 무게를 잰 뒤 가위로 잘게 자르고 Tris buffer 1 ml을 가한 뒤 homogenizer(Ultra-turrax T25 basic, IKA Inc., Germany)를 사용하여 균질화하고, 균질액에 *t*-butyl-ethylether 5 ml을 가하여 20분간 vortex하고 원심분리한 후 상정액 1 ml을 취하여 50°C에서 질소 purge시켰다. 유기용매가 모두 제거되면 이동상으로 재분산하고 0.45 μm filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다. 이때 약물의 피부잔류량(Q<sub>L</sub>)은 수화시킨 full-thickness rat skin의 단위면적당 약물의 양(μg/cm<sup>2</sup>)으로 계산한 뒤 해당 약물의 분자량으로 나누어 mmol/cm<sup>2</sup>로 나타내었다.

**결 과**

**AsP의 가수분해 특성**

흰쥐의 피부균질액에서 에스테라제에 의한 AsP의 가수분해는 전형적인 1차 속도식을 따랐으며(Figure 1), 가수분해

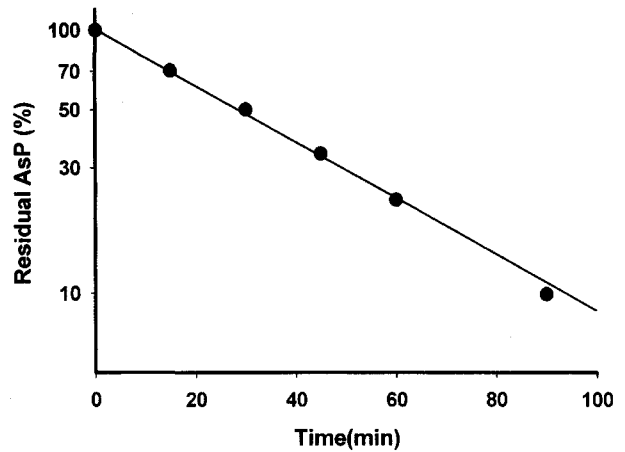


Figure 1—Semilog plot for hydrolysis of acorbyl palmitate (AsP) in rat's skin homogenate.

속도상수 및 반감기는 각각 2.46×10<sup>-2</sup> min<sup>-1</sup>, 28.14 min이었다. 프로드럭들은 피부 에스테라제에 의해 일반적으로 1차속도식에 따라 가수분해되고, 효소를 함유하지 않은 용액에 비하여 효소용액중에서 보다 빨리 가수분해 되며 반감기가 매우 짧은 것이 특징인데,<sup>16,17</sup> 본 실험에서도 AsP의 반감기가 30분 이내로 나타나 피부내 효소에 의해 AsP가 빠르게 가수분해되어 AsA를 생성시킴을 알 수 있었다. 이상의 실험을 통하여 피부중에 충분한 양의 에스테라제가 존재한다고 가정할 때 피부투과 과정중 AsP는 30분 이내에 50% 이상이 활성형인 AsA로 가수분해되어 항산화효과를 나타낼 것으로 예측되었다.

**리포솜의 물리적 특성**

제조된 리포솜의 특징을 Table I에 나타내었다. 중성 리포솜의 경우는 약 1 μm 정도의 입자도를 나타낸 반면, 음전하를 부여하기 위하여 DCP를 가하였을 때에는 입자도가 줄어들었으며 통상 문헌<sup>18,19</sup>에서 보고하는 MLV 리포솜의 크기인 400 nm~3.5 μm 이내에서 제조되었음을 확인하였다. 한편 DCP를 첨가하였을 때 -30 mV 이하의 표면음전하를 나타내었고, DCP의 양에 비례하여 표면음전하량도 증가하였다. AsP의 봉입효율은 DCP를 20% 함유한 음전하 리포솜

Table I—Physical Characteristics of different Liposome Formulations containing Ascorbyl Palmitate

Liposome composition	Particle Size (nm)	Zeta potential (mV)	Encapsulation efficiency(%)
DMPC only	1027.43 ± 99.92	N.D.	90.48 ± 0.56
DMPC : DCP (9 : 1)	611.83 ± 16.03	-32.50 ± 2.22	99.47 ± 0.03
DMPC : DCP (8 : 2)	650.14 ± 22.41	-47.52 ± 6.72	76.11 ± 0.85

N.D. : Not determined. Data are expressed as mean ± S.D. (n=3).

을 제외하고는 90% 이상 높게 나타났으며, 이는 AsP가 소수성에 기인하여 인지질 이중층 내의 지질 영역에 쉽게 분배되었기 때문인 것으로 사료된다.

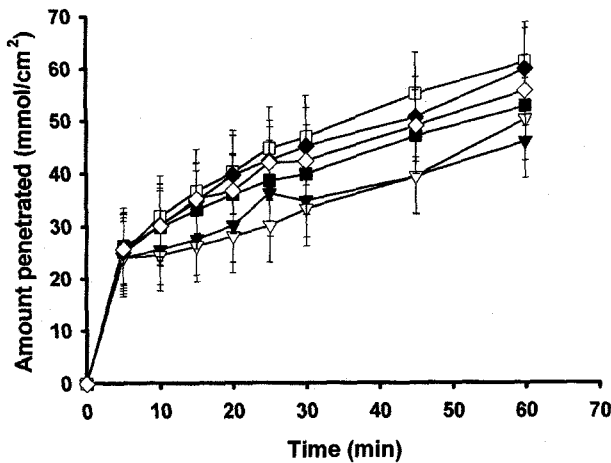
**AsP의 피부투과 및 잔류 특성**

피부 균질액에서의 가수분해실험으로 부터 AsP는 에스테라제에 의해 AsA로 가수분해됨을 확인하였기 때문에, 본 피부투과 실험에서 대조용 hydrogel 및 리포젤로부터 투과된 약물의 양은 receptor 매질 중의 AsP의 양과 AsA의 양의 합으로 나타내었다. 이때 receptor 매질중에서 AsP 및 AsA의 안정성을 살펴본 결과 두 약물 모두 실험이 진행되는 1시간까지 약물의 분해량이 AsA는 6.7%, AsP는 0.11%로 나타나(Table II) 방출 매질 중 약물의 불안정성이 약물의 투과량 평가에 큰 영향을 미치지 않음을 확인한 뒤 실험을 실시하였다. Figure 2는 각 제제로부터의 피부투과 양상을 나타낸 것이며, Figure 3은 약물의 투과량(Q<sub>p</sub>)과 약물의 잔류량(Q<sub>L</sub>)의 합으로써 1시간까지의 총 투과량(Q<sub>Total</sub>)을 나타낸 것이다. Table III로 부터 통해 알 수 있듯이 리포젤이 대조용 hydrogel에 비하여 약물의 투과량이 높음을 알 수

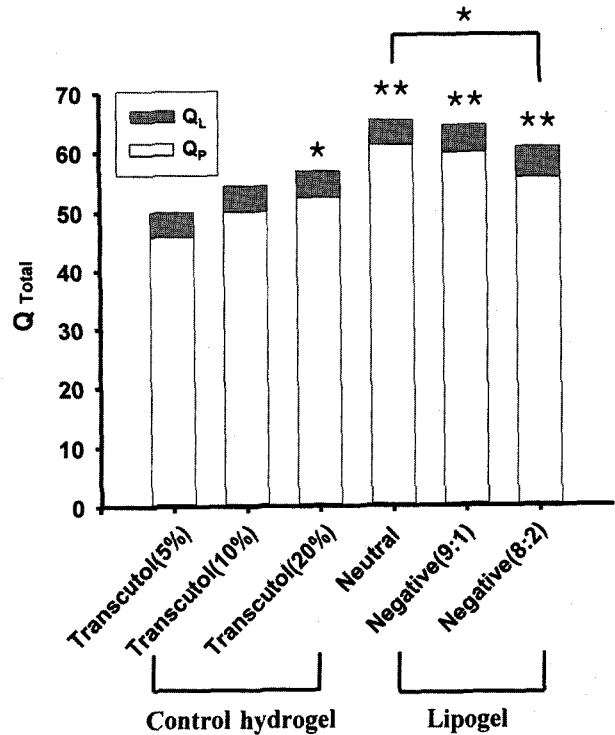
**Table II—Stability of Ascorbic Acid (AsA) and Ascorbyl Palmitate (AsP) in Receptor medium<sup>a)</sup> Used in Skin Penetration Study at 37°C**

Drug	Rate constant (k, hr <sup>-1</sup> )	t <sub>10</sub> (hr)	% Deg.(Calc.) <sup>b)</sup>
AsA	7.00×10 <sup>-2</sup>	1.50	6.70
AsP	1.07×10 <sup>-3</sup>	98.58	0.11

<sup>a)</sup> pH 7.0 phosphate buffer : Ethanol (70 : 30 v/v).  
<sup>b)</sup> Calculated amount for degradation within 1 hr.



**Figure 2—Skin permeation profiles of various formulations. ▼, Control hydrogel (Transcutol® 5%); ▽, Control hydrogel (Transcutol® 10%); ■, Control hydrogel (Transcutol® 20%); □, Neutral lipogel; ◆, Negative lipogel (DMPC : DCP = 9 : 1); ◇, Negative lipogel (DMPC : DCP = 8 : 2).**



**Figure 3—Comparison of total amount penetrated (Q<sub>Total</sub>) of AsP, where Q<sub>Total</sub> = Q<sub>p</sub> (amount penetrated) + Q<sub>L</sub> (amount localized). \*Significantly different (P < 0.05) from control hydrogel containing Transcutol® 5% or neutral lipogel. \*\*Significantly different (P < 0.01) from control hydrogel containing Transcutol® 5%.**

있으며, 대조용 hydrogel에서는 경피흡수촉진제로 사용한 diethyleneglycol monoethyl ether(Transcutol®)의 농도에 비례하여 약물 투과량이 증가하였고 리포젤에서는 중성리포젤, DCP를 10% 함유한 음전하 리포젤, DCP를 20% 함유한 음전하 리포젤 순으로 나타났다.

먼저 대조용 hydrogel의 경우 Transcutol®을 사용하지 않고는 겔 매트릭스에 AsP를 용해분산시킬 수 없으며, Transcutol®의 농도별 투과량 및 투과속도를 외삽하여 Transcutol® 0%인 이론적 제제의 예상 투과량 및 예상 투과속도를 구하였을 때 각각 44.58 mmol/cm<sup>2</sup>, 23.66 mmol/cm<sup>2</sup>/hr로 계산되었다. 즉, 중성 리포젤의 경우 Transcutol® 0%인 이론적 제제에 비하여 투과량 및 투과속도가 각각 1.37배, 1.65배 이상 높은 것으로 나타났다. 한편 Q<sub>Total</sub> 값에 대하여 Transcutol®을 5% 함유한 대조용 hydrogel과 다른 제제들과의 유의성을 검증(Student's t-test)해 본 결과, 리포젤의 경우 모두 유의성 있는 차이(P < 0.01)를 보였으며, 대조용 hydrogel의 경우 Transcutol® 20%를 함유한 겔만이 유의성 있는 차이(P < 0.05)를 나타내었다. 그러나 Q<sub>L</sub> 값에는 큰 차이가 나타나지 않았는데, 이것은 AsP의 용해도를 고려하여 receptor

**Table III—Rat's Skin Permeation Parameters of AsP in Different Formulations**

Formulation	Amount penetrated (Q <sub>p</sub> , mmol/cm <sup>2</sup> )	Amount localized (Q <sub>L</sub> , mmol/cm <sup>2</sup> )	Flux (J <sub>s</sub> , mmol/cm <sup>2</sup> /hr)
Control hydrogels			
Transcutol <sup>®</sup> (5%)	45.83 ± 6.86	4.17 ± 0.29	23.85 ± 0.13
Transcutol <sup>®</sup> (10%)	50.06 ± 7.81	4.32 ± 0.53	28.39 ± 0.27
Transcutol <sup>®</sup> (20%)	52.57 ± 7.14	4.41 ± 0.53	28.77 ± 0.11
Lipogels			
Neutral lipogel	61.08 ± 7.51	4.20 ± 1.04	39.07 ± 0.40
Negative lipogel (DMPC : DCP = 9 : 1)	59.73 ± 7.76	4.63 ± 0.29	37.94 ± 0.49
Negative lipogel (DMPC : DCP = 8 : 2)	55.58 ± 6.83	5.09 ± 0.55	32.63 ± 0.17

Data are expressed as mean ± S.D. (n=3).

매질로 사용한 30% 에탄올 용액의 약물 추출효과로 인하여 AsP가 피부에 잔류하지 않고 receptor 매질로 용해확산되었기 때문인 것으로 사료된다.

한편 중성리포젤과 음전하 리포젤의 약물투과량을 비교하여 볼 때 오히려 입자도가 큰 중성 리포젤이 음전하 리포젤에 비하여 Q<sub>p</sub>가 높았는데 이는 리포좀의 입자 크기가 200 nm 이상일 경우에는 약물투과에서 큰 차이가 나타나지 않는다는 문헌<sup>20)</sup>을 근거로 할 때 Q<sub>p</sub>에서의 차이는 입자의 크기 때문은 아닐 것으로 사료되었다. 실험 결과를 볼 때 음전하 리포젤이 중성리포젤에 비하여 Q<sub>p</sub>가 낮았고 음전하 리포젤에서도 DCP를 20% 함유한 제제가 10% 함유한 제제에 비하여 Q<sub>p</sub>가 다소 낮았다. 문헌<sup>21)</sup>에 의하면 피부는 생리학적인 조건에서 음으로 하전될 때 피부가 일종의 이온교환수지와 같은 역할을 함으로써 음전하 보다는 양전하를 더 용이하게 투과시키는 Donnan exclusion effect에 의하여 전하를 띠는 물질에 대하여 선택투과성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 실제로 중성리포젤과 음전하 리포젤과의 Q<sub>Total</sub>을 비교하였을 때 DMPC와 DCP를 9:1의 비율로 제조한 리포젤과 중성리포좀 사이에서는 Q<sub>Total</sub> 값에서 통계적으로 유의성 있는 차이가 나타나지 않았으나 8:2 비율로 제조한 음전하 리포젤은 유의성 있는 차이(P < 0.05)를 나타냄으로써 문헌의 보고와 일치함을 알 수 있었다. 따라서 음전하 리포젤이 중성 리포좀에 비하여 Q<sub>Total</sub>이 더 낮았고 음전하 리포젤중에서도 DCP를 20% 함유한 제제가 DCP를 10% 함유한 제제에 비하여 Q<sub>Total</sub>이 다소 낮았던 것은 바로 피부의 선택투과성 때문인 것으로 사료된다.

### 고 찰

Mura 등<sup>22)</sup>에 의하면 Transcutol<sup>®</sup>은 독성이 적고 생체적합성이 우수하며, 극성 및 비극성 물질과 잘 섞이는 특징을 가

지고 있고 기타의 투과촉진제들과 병용사용시 약물의 투과를 증대시키는 우수한 경피흡수 촉진제로 소개된 바 있다. Azone을 비롯한 대부분의 경피흡수촉진제들의 경우 각질층 인지질의 fluidity를 증가시켜 diffusion coefficient를 변화시킴으로써 약물의 투과를 증대시키지만 Transcutol<sup>®</sup>은 각질층의 fluidity에도 변화를 일으키지 않고 약물의 lag time에 변화를 주지 않으면서 flux를 증가시킴으로써 그 기전이 피부 각질층에서의 약물의 용해도를 증가시켜 각질층을 통한 약물의 flux를 증가시키는 것으로 알려져 있다.<sup>22,23)</sup> 또한 Transcutol<sup>®</sup>은 약물을 피부에 retention 시키는 능력이 우수한 물질로 보고되어 있다. Intercellular space volume은 전체의 1-10% 이내로 매우 작지만 Transcutol<sup>®</sup>은 i) 극성 및 비극성의 물성을 가지고 있어 피부 각질층의 multiple bilayer로의 유입이 매우 용이하며 ii) intercellular lipid multiple bilayer의 구조적 변화를 일으키지 않고 swelling 시킴으로써 lipid domain이 약물을 holding하는 능력이 크기 때문에 결과적으로 intracutaneous depot 역할을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>24,25)</sup>

한편 리포좀의 피부투과 증대효과에 대해서는 논란이 매우 많은데, Kirjavainen 등<sup>26)</sup>은 통상 리포좀 제제의 경피투과시 flux가 낮은 이유를 i) phospholipid가 피부표면에 또 다른 막을 형성하여 약물의 flux를 감소시키거나 ii) 리포좀으로부터 느린 약물의 방출 및 약물과 lipid 사이의 상호작용 등으로 설명하였다. 또한 Schreier 등<sup>11)</sup>은 i) 리포좀의 인지질에 radiolabelling한 뒤 경피실험을 진행하였을 때 인지질이 receptor 매질에서 발견되지 않았고 ii) hydrocortisone과 progesterone과 같은 lipophilic drug의 약물투과가 리포좀 유무에 큰 영향을 받지 않았다는 사실을 통하여 리포좀 또는 인지질은 intact skin을 확산하지 못한다고 주장하기도 하였으며, Knepp 등<sup>27,28)</sup>이 agarose gel에 리포좀을 분산시켜 리포좀을 고정시킨 뒤 경피투과 실험을 진행한 결과 인지질

은 피부를 통과하지 못하고 약물이 리포솜에서 유리되어 겔을 확산하여 피부를 투과함을 보여주었다.

반면 Fang 등<sup>29)</sup>은 egg PC를 사용하였을 때 DMPC에 비하여 약물투과도, 피부잔류도 및 flux가 증가함을 통하여 리포솜 조성의 중요성을 보여주었으며, 이는 egg PC의 불포화 지방산이 피부를 교란시킴으로써 enhancing effect를 나타낸 것으로 고찰하였다. 또한 lipid로 피부를 전처리 한 뒤 약물의 투과가 증진된 결과를 통하여 lipid는 각질층의 intercellular domain에 영향을 줌으로써 각질층의 fluidity를 증가시킨다고 고찰하였다. 한편 Weiner 등<sup>30)</sup>은 hairy guinea pig과 hairless guinea pig을 이용한 실험에서 hairy guinea pig에서의 약물투과가 많이 일어난 결과를 통하여 리포솜이 permeation enhancer로 사용되기 보다는 follicular route를 통해 이행한다고 말한 바 있다.

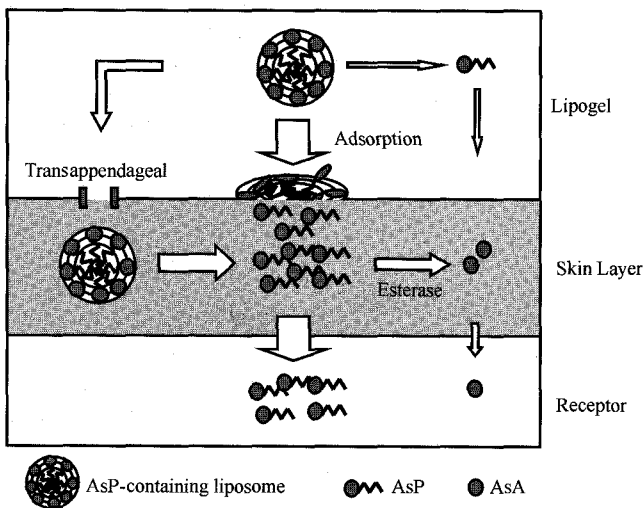


Figure 4—Conceptual drawing for skin penetration process of AsP in lipogel formulations. Arrows represent a feasible pathway in the sense that the thicker, the greater.

본 실험에서 리포젤의 경우 어떤 메카니즘에 의해 AsP의 피부투과가 증진될 수 있었는지에 대해서는 명확한 결론을 내리기는 어려우나, 피부 각질층을 통한 투과와 땀구멍이나 모공과 같은 피부부속기관을 통한 투과 두 가지 모두에 대한 가능성을 생각해 볼 수 있다. Figure 4에 제시한바와 같이 피부 각질층을 통한 투과는 i) 리포솜이 피부 표면에 흡착하여 흡수부위에서의 국소 약물농도를 높여 피부를 통한 약물의 농도기울기를 증가시킴으로써 flux를 증가시켰을 가능성과 ii) 리포솜을 구성하는 인지질에 의한 피부투과 촉진 가능성을 유추해볼 수 있고, 피부부속기관을 통한 투과의 경우 앞에서 기술한 바와 같이 음전하 리포솜에 대한 선택투과성으로 인하여 음전하가 클수록 약물의 피부투과가 감소되는 경향을 나타내었다는 사실을 통해 리포솜의 일부는 피부부속기관을 통하여 투과되었을 가능성을 간접적으로 알 수 있었다.

일반적으로 피부를 통한 약물의 투과과정에는 lag time이 존재하는데 Figure 5를 보면 경피투과 초기에 lag time이 존재하지 않고 오히려 빠른 약물투과 현상이 나타남을 알 수 있었는데 이는 부속기관을 통하여 초기 약물투과가 빠르게 일어났음을 시사한다. 그러나 i) 피부의 부속기관이 피부표면적의 0.1% 정도<sup>31)</sup>에 지나지 않기 때문에 1시간이라는 짧은 시간동안에 부속기관을 통한 약물의 총 투과량은 매우 적을 것이라는 점 ii) 초기 5분 이후의 약물투과 양상이 매우 직선적으로 나타나고 있어 5분 이후에는 농도구배에 의한 약물투과가 이루어짐으로써 전형적인 경피투과 양상을 나타내고 있다는 점 등을 통해 리포솜은 위에서 제시된 두가지 기전 중 대부분 피부 각질층을 통한 약물투과를 증진시켰을 것으로 사료된다.

한편 시간이 지남에 따라 AsP의 투과량은 계속 증가하고 있지만 AsP의 가수분해로 생성된 AsA의 투과량이 5~10분

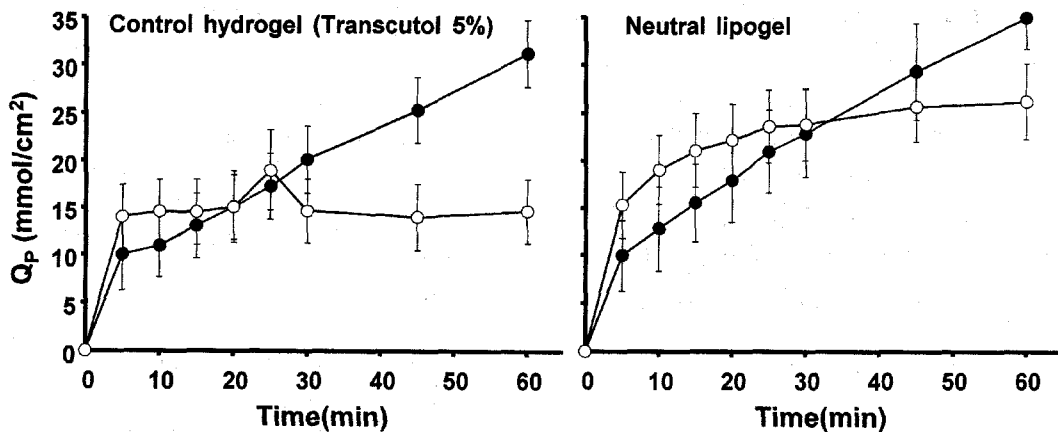


Figure 5—Cumulative amount of AsP (●) and AsA (○) in receptor medium of skin penetration study.

이후에 큰 증가를 보이지 않고 plateau를 나타낸 것은 *in vitro* 실험조건상에서 AsP의 용해도 및 안정성을 고려하여 30% 에탄올을 함유하는 인산완충액을 receptor 매질로 선정하였기 때문에 피부 에스테라제가 빠른시간내에 포화되었거나 receptor 매질중에 존재하는 에탄올에 의해 에스테라제가 단시간내에 불활화 됨으로써 대부분의 약물이 AsP의 형태로만 검출되었을 것으로 해석된다. 결과적으로 AsP 및 AsA는 피부에 잔류되기 보다는 receptor 매질로 쉽게 용해 또는 확산될 수 있는 조건이 되었기 때문에 약물의 피부잔류도에 대하여 정확한 결론을 내리기는 어려우나, 리포겔 제제의 경우 Transcutol®에 비하여  $Q_{Total}$  값을 높일 수 있었을뿐 아니라, 통상 리포솜이 국소외용 제제화에 많이 이용되어 왔다는 사실들<sup>10-13,26-30)</sup>을 감안할 때 리포겔은 AsP의 피부 투과 및 잔류를 높일 수 있는 좋은 제형으로 평가되었다.

**결 론**

AsA의 프로드러그인 AsP의 쥐피부 균질액 중에서의 가수분해 특성과 AsP를 리포솜에 봉입한 리포겔제의 경피투과 및 약물의 피부잔류특성을 살펴보았다. 가수분해 실험을 통해 살펴본 바와 같이 AsP는 리포솜으로 부터 방출된 이후 30분 이내에 피부에 존재하는 피부 에스테라제에 의해 가수분해되어 활성형인 AsA로 변환됨으로써 빠른시간내에 약효를 나타낼 것으로 기대되었다. AsP를 리포겔로 제제화 함으로써 약물의 피부투과도( $Q_p$ )를 높일 수 있었는데 그 기전으로 i) 리포솜의 흡수부위에서의 국소 약물농도 증가와 리포솜을 구성하는 인지질의 피부 투과 촉진효과에 의한 피부투과와 함께 ii) 모공이나 땀구멍과 같은 부속기관을 통한 피부투과가 모두 관여하는 것으로 해석되었으며, AsP의 투과는 대부분 리포솜의 피부흡수 촉진효과에 기인한 것임을 알 수 있었다. AsP의 피부잔류도( $Q_L$ )는 30% 에탄올을 함유하는 인산완충액을 receptor 매질로 선정함으로써 정확히 평가할 수는 없었으나 intracutaneous depot 기능을 지닌 Transcutol® 비하여  $Q_p$ 와  $Q_L$ 의 합인  $Q_{Total}$  값을 높일 수 있었기 때문에 리포겔은 AsP의 피부투과량 및 피부잔류량을 증대시켜 약효를 장기간 지속시킬 수 있을 것으로 예상되었다. 이상을 종합할 때, AsA의 prodrug인 AsP를 리포솜에 봉입하여 겔제로 제제화한 리포겔은 항산화제 및 피부노화억제 물질로 알려진 AsA를 피부로 전달할 수 있는 좋은 방법으로 평가되었다.

**감사의 말씀**

이 연구는 산업자원부의 산업기반기술개발사업 연구비지

원에 의해 수행된 연구 결과중 일부를 정리한 것으로 본 연구의 지원에 감사드립니다.

**문 헌**

- 1) P. Špiclin, M. Gašperin and V. Kmetec, Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsions, *Int. J. Pharm.*, **222**, 271-279 (2001).
- 2) R. Austria, A. Sementazo and A. Bettero, Stability of vitamin C derivatives in solution and topical formulations, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **15**, 795-801 (1997).
- 3) C.G. Beddows, J. Charanjit and M.J. Kelly, Effect of ascorbyl palmitate on the preservation of  $\alpha$ -tocopherol in sunflower oil, alone and with herbs and spices, *Food Chem.*, **73**, 255-261 (2001).
- 4) Y.Y. Gwo, G.J. Flick and H.P. Dupuy, Effect of ascorbyl palmitate on the quality of frying fats for deep frying operations, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **62**, 1666-1671 (1985).
- 5) L.M. McMullen, C. Hawrysh and B. Tokarska, Ascorbyl palmitate efficiency in enhancing the accelerated storage stability of canola oil, *J. Food Sci.*, **56**, 1651-1659 (1991).
- 6) Y. Shuji, N. Noriyuki and K. Toshio, Stabilization of AsA aqueous solution by protamins, *Yakugaku Zasshi*, **113**, 385-390 (1993).
- 7) M.A. Kassem, A.A. Kassem and H.O. Ammar, Studies on the stability of injectable L-ascorbic acid solutions I. Effect of pH, solvent, light and container, *Pharm. Acta Helv.*, **44**, 611-623 (1969).
- 8) M.A. Kassem, A.A. Kassem and H.O. Ammar, Studies on the stability of injectable L-ascorbic acid solutions II. Effect of metal ions and oxygen content of solvent water, *Pharm. Acta Helv.*, **44**, 667-675 (1969).
- 9) M.A. Kassem, A.A. Kassem and H.O. Ammar, Studies on the stability of injectable L-ascorbic acid solutions III. Effect of metal-complexing agent, *Pharm. Acta Helv.*, **47**, 89-97 (1971).
- 10) E.W. Smith and H.I. Maibach, Percutaneous penetration enhancers, CRC Press, New York, pp. 1-4 (1995).
- 11) H. Schreier and J. Bouwstra, Liposome and niosomes as topical drug carriers : dermal and transdermal drug delivery, *J. Control. Rel.*, **30**, 1-15 (1994).
- 12) M. Mezei and V. Gulasekharam, Liposomes - A selective drug delivery system for the topical rout of asministration I. Lotion dosage form, *Life Sci.*, **26**, 1473-1477 (1980).
- 13) M. Mezei and V. Gulasekharam, Liposomes - A selective drug delivery system for the topical rout of asministration II. Gel dosage form, *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**, 473-474 (1981).
- 14) S. Ahmed, T. Imai and M. Otagiri, Stereoselective hydrolysis and penetration of propranolol prodrugs : in vitro evaluation using hairless mouse skin, *J. Pharm. Sci.*, **84**, 877-883 (1995).
- 15) A.D. Bangham, M.M. Standish and J.C. Watkin, Diffusion of univalent ion across the lamellae of swollen phospholipids, *J.*

- Mol. Biol.*, **13**, 238-252 (1965).
- 16) R. Jarkko, N. Tapio, T. Hannu, V. Jouko, G. Jukka, L. Krista and J. Tomi, Piperazinylalkyl prodrugs of naproxen improve in vitro skin permeation, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **11**, 157-163 (2000).
  - 17) R. Jarkko, T. Hannu, G. Jukka, V. Jouko, N. Tapio and J. Tomi, In vitro evaluation of acyloxyalkyl esters as dermal prodrug of ketoprofen and naproxen, *J. Pharm. Sci.*, **12**, 1622-1628 (1998).
  - 18) H. Sezaki 저, 약물송달학, 한림원, 심창구, 정연복, 강영숙 공역, pp. 228-231 (1990).
  - 19) A. Sharma and U.S. Sharma, Liposome in drug delivery : progress and limitations, *Int. J. Pharm.*, **154**, 123-140 (1997).
  - 20) M. Šentjure, K. Vrhovnik and J. Kristl, Liposomes as a topical delivery system : the role of size on transport studied by the EPR imaging method, *J. Control. Rel.*, **59**, 87-97 (1999).
  - 21) J. Hadgraft and R.H. Guy, *Transdermal drug delivery : Developmental issues and research initiatives*, Marcel Dekker, New York, U.S.A., pp. 252-260 (1980).
  - 22) P. Mura, M.T. Faucci, G. Bramanti and P. Corti, Evaluation of transcutol as a clonazepam transdermal permeation enhancer from hydrophilic gel formulations, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **9**, 365-372 (2000).
  - 23) J.E. Harrison, A.C. Watkinson, D.M. Green, J. Hadgraft and K. Braun, The relative effect of Azone and Transcutol on permeant diffusivity and solubility in human stratum corneum, *Pharm.Res.*, **13**, 542-546 (1996).
  - 24) R. Panchagnula and W.A. Ritschel, Development and evaluation of an intracutaneous depot formulation of corticosteroids using transcutol as a cosolvent : in vivo, ex vivo and in vitro rat studies, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 609-614 (1991).
  - 25) W.A. Ritschel, R. Panchagnula, K. Stemmer and M. Ashraf, Development of an intracutaneous depot for drugs, *Skin Pharmacol.*, **4**, 235-245 (1991).
  - 26) M. Kirjavainen, A. Urtti, R.V.-Koskela, J. Kiesvaara and J. Mönkönen, Liposome-skin interaction and their effects on the skin permeation of drugs, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **7**, 279-286 (1999).
  - 27) V.M. Knepp, R.S. Hinz, F.C. Szoka Jr. and R.H. Guy, Controlled drug release from a novel liposomal delivery system I. Investigation of transdermal potential, *J. Control. Rel.*, **5**, 211-221 (1988).
  - 28) V.M. Knepp, F.C. Szoka, Jr. and R.H. Guy, Controlled drug release from a novel liposomal delivery system II. Transdermal delivery characteristics, *J. Control. Rel.*, **12**, 25-30 (1990).
  - 29) J.-Y. Fang, C.-T. Hong, W.-T. Chiu and Y.-Y. Wang, Effect of liposomes and niosomes on skin permeation of enoxacin, *Int. J. Pharm.*, **219**, 61-72 (2001).
  - 30) N. Weiner, L. Libe, S. Niemieć, C. Ramachandran, Z. Hu and K. Egbariz, Liposomes : A Novel topical delivery system for pharmaceutical and cosmetic applications, *J. Drug. Target.*, **2**, 405-410 (1994).
  - 31) K. Moser, K. Kriwet, A. Naik, Y.N. Kalia and R.H. Guy, Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **52**, 103-112 (2001).