

케토프로펜의 경피전달 및 전기삼투압의 영향

오 승 열[†]

숙명여자대학교 약학대학

(2004년 11월 3일 접수 · 2004년 12월 13일 승인)

Transdermal Delivery of Ketoprofen and the Effect of Electroosmosis

Seaung-youl Oh[†]

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, 53-12 Chungpa-Dong 2ka, Yongsan-Ku, Seoul, Korea
(Received November 3, 2004 · Accepted December 13, 2004)

ABSTRACT—We investigated some important factors which affect the transdermal flux of ketoprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory agent, as a first step to provide some basic knowledge for the development of a iontophoretic transdermal patch system. Factors such as current density, polarity, buffer (HEPES) and electrolyte concentration and pH were studied using hairless mouse skin. The effect of poly(L-lysine), which is known to affect the electro-osmotic flow through skin, on flux was also studied. Passive flux was about 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$ at pH 4.0, but was negligible at pH 7.4 where all ketoprofen molecules dissolved are ionized (ketoprofen $\text{pK}_a=5.94$). At pH 4.0, application of anodal current increased the flux further above the passive level, however anodal flux at pH 7.4 was much smaller than passive flux at pH 4.0. The application of cathodal current at pH 4.0 increased the average flux to 30–40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$, depending on the current density applied. At pH 7.4, cathodal flux was only about 5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$. Decrease in buffer and electrolyte concentration increased this cathodal flux about 10 fold. However decrease in HEPES buffer concentration 100 fold did not affect the flux. Anodal flux of acetaminophen was much larger than cathodal flux, indicating that electroosmotic flow can be playing an important role in the flux. Poly(L-lysine) increased the cathodal flux at pH 7.4. These results provide some important insights into the mechanism of transdermal flux of ketoprofen and the role of electroosmotic flow.

Key words—Ketoprofen, pH, poly (L-lysine), Electroosmotic flow

피부를 통한 약물송달시스템은 경구투여 시 나타날 수 있는 여러 가지 단점을 최소화시켜줄 수 있는 시스템으로 간의 초회통과효과를 피할 수 있고 위장관 장애를 유발하지 않으며 사용이 간편하고 단독투여로 수일간 유효혈중농도의 유지가 가능하여 환자순응도를 높일 수 있으며 필요 시 약물투여를 손쉽게 중단할 수 있는 등 장점을 가지고 있다.^{1,2)} 이러한 여러 가지 임상적 및 편리성 때문에 비록 짧은 개발 역사를 갖고 있지만 1981년에 Scopolamine 패취가 처음으로 미국 FDA로부터 허가를 받은 후 지금까지 지난 20여 년간 10종류 이상의 약물 (fentanyl, nitroglycerin, estradiol, ethinyl estradiol, norethindrone acetate, testosterone, clonidine, nicotine, lidocaine, prilocaine, scopolamine, tulobuterol, oxybutynin) 등에 대해 35 가지 이상의 경피전달패취 제제가 허가를 받아 판매되고 있다.^{3,4)} 국내에서도 상기된 약물에 대한 다양한 패취 제형이 개발되었으며 NSAID 약물로는 케

토프로펜, 디클로페낙, 피록시캠 등의 패취 제형이 개발 시 판되고 있다.

그러나 시판되고 있는 기존의 패취제형들은 약물의 피부를 통한 단순확산에 의한 수동적인 패취로서 패취 적용 후 4–6 시간이 지나야 약효를 나타내며 투과되는 약물의 양의 조절이 어렵다. 이러한 단점을 개선하여 약물의 피부투과량 및 피부투과속도를 증대시키기 위해 피부투과촉진제를 사용하거나, 이온토포레시스, 소노포레시스, electroporation 등의 물리적 방법을 사용하기도 한다. 이 중 이온토포레시스는 리도케인, 구연산펜타닐 또는 케토프로펜과 같이 수용액 내에서 전하를 띠고 있는 약물의 피부투과속도 및 그 투과량을 월등히 상승시킬 수 있다.

본 연구에서는 케토프로펜을 모델약물로 선택하여 pH, 전극의 극성 및 전류세기 등 다양한 실험조건의 변화가 피부투과속도 및 양에 미치는 영향을 조사하였고 증성분자를 이용해 전기삼투압의 크기도 조사하였으며 또한 이온토포레시스 시에 일어날 수 있는 전기삼투압 현상에 의한 투과량의 변화를 poly (L-lysine)을 이용하여 조사하였다. 전기삼투 현

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)710-9563, E-mail : syoh@sdic.sookmyung.ac.kr

상은 피부의 전기를 통하는 통로 내의 액체의 흐름으로 이는 통로 표면이 음전하를 가지고 있어 양이온에 대한 permselectivity가 있어 발생한다. 즉 통로 내의 음전하 표면에 전기이중층이 형성되고 이 이중층 내의 양전하가 cathode 쪽으로 끌려가면서 음전하에 비해 피부를 통해 흐르는 전체 전류의 더 많은 분율을 담당하게 되며 (Na^+ 의 transport number = 0.7) 전기이중층 및 주위의 물분자들이 cathode 쪽으로 이동하게 된다. Cathode 쪽으로 이동하는 물에 용해되어 있는 약물들도 같이 이동하게 되므로 단순확산이나 전기적 반발에 의한 투과 이외의 추가적인 약물의 투과 (anode에서 cathode 방향)가 이루어지게 된다. 이러한 전기삼투 현상은 특히 중성 약물의 피부투과에 중요한 역할을 할 수 있으며 이 현상은 여러 가지 방법에 의해 조절될 수 있다.^{5,6)} 본 연구에서는 poly (L-lysine)을 이용하여 피부 내의 약물이 투과하는 통로의 표면전하를 변화시킴으로써 일어나는 약물의 flux의 변화를 연구하였다.^{7,8)} 이 모든 연구 결과를 종합하여 실험조건에서 농도구배에 의한 단순확산, 전위차에 의한 정전기적 반발 및 전기삼투압이 피부 flux 및 그 양에 기여하는 정도를 조사하였다.

비스테로이드성 소염진통제 (NSAID)인 케토프로펜은 중등도의 통증, 만성 골관절염, 류마티스 관절염의 치료 등에 널리 사용되고 있으나^{9,10)} 경구투여 시 10-30%의 환자에서 위장관 장애와 같은 부작용이 나타나고 있고 약 10%의 환자에서 그 증상이 심각하여 투여를 중단하는 것으로 알려져 있으며 또한 반감기가 짧아 환자순응도를 저하시키는 단점이 있다.^{11,12)} 따라서 케토프로펜은 경피패취제형으로의 개발에 매우 적합한 약물로 볼 수 있다. 본 연구의 결과는 이온토포레시스 패취의 개발 시 고려해야할 기초 지식을 제공하며 또한 약물투과를 조절하는 방법을 제공하고 있다.

실험 방법

시약 및 기기

HEPES(N-[2-Hydroxyethyl] piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid]), 케토프로펜, 아세트아미노펜, NaOH, AgCl, Ag 선 (직경 1 mm) 및 poly(L-lysine) hydrobromide은 Aldrich사 (Milwaukee, WI, U.S.A.)에서 구입하였다. NaCl, 메탄올, acetonitrile 및 H_3PO_4 은 덕산이화학 (서울, 한국)에서 구입하였고 NaH_2PO_4 및 Na_2HPO_4 는 Junsei chemical사 (Tokyo, Japan)에서 구입하였다. 피부투과 실험을 위해 1 ml의 내용량과 0.5 cm^2 의 투과면적을 가진 side-by-side 확산셀을 제조(유일과학, 부산, 한국)하여 사용하였다. Multi-stirrer는 Variomag사 (Oberschleissheim, Germany)의 Electronicruhrer

Poly 15를 사용하였고 항온 실험을 위한 항온기는 Jeio Tech사 (안산, 한국)의 SI-900을 사용하였으며 직류 공급 장치는 Power Tech사 (안산, 한국)의 PT 70-10 MDC를 사용하였다. HPLC 시스템으로는 Shimadzu사 (Kyoto, 일본)의 CBM-10A와 SIL-10A auto injector를 사용하였고, 컬럼으로는 Waters사의 μ -BondapakTM C₁₈ ($3.9 \times 300 \text{ mm}$, Waters, Milford, MA, U.S.A.)을 사용하였다. 전극으로는 Ag/AgCl 전극을 자체 제작하여 사용하였으며 피부는 무모생쥐 (암컷, 8-12 주령, 연세대학교 동물센터, 서울, 한국)의 whole skin을 제거한 후 Deep freezer (Model 825, Forma Scientific Inc.)에 보관 후 실험 시 꺼내어 사용하였다. 실험에 사용된 증류수는 Nanopure ultrapure water system (Barnstead, Iowa, U.S.A.)을 사용하여 제조하였다.

전극의 제조

전극은 직경 1 mm의 Ag wire (Aldrich, 99.9%, Milwaukee, WI, U.S.A.)의 한쪽 끝 부분을 AgCl (Aldrich, 99.9%, Milwaukee, WI, U.S.A.) 용액에 수회 침적시켜 제조하였다.

케토프로펜 및 아세트아미노펜의 정량

케토프로펜 및 아세트아미노펜의 정량은 HPLC를 이용하였다. HPLC 시스템으로 Shimadzu CBM-10A system과 SIL-10A auto injector를 사용하였고, 컬럼은 μ -BondapakTM C₁₈ ($3.9 \times 300 \text{ mm}$)을 사용하였으며, 오븐의 온도는 36°C 를 유지하였다. 케토프로펜의 경우 인산완충액 (pH 3):acetonitrile = 50:50 비율의 이동상을 사용하였고 아세트아미노펜의 경우 증류수:메탄올 = 60:40 비율의 이동상을 사용하였다. 유속은 각각 1.0 및 1.2 ml/min이었으며 각각 UV 258 및 295 nm에서의 흡광도를 측정하여 정량하였다.

In-vitro 피부 투과

케토프로펜의 투과실험은 무모생쥐의 whole skin과 side-by-side 확산셀을 사용하여 multistirrer가 장착된 36.5°C 항온기에서 실시하였다. 확산셀의 공여체 (donor phase)로는 케토프로펜이 0.50 mg/ml 녹아 있는 HEPES 완충액 (NaCl 첨가, pH 7.4, 4.0)을 사용하였고 수용체 (receptor phase)로는 약물이 함유되지 않은 완충액 용액을 사용하였다. Side-by-side diffusion cell 사이에 무모생쥐의 피부를 놓고 고정시킨 다음 공여체 쪽에 약물용액을 채우고 수용체 쪽에는 같은 pH의 완충액을 채운 다음 막대 형태의 전극을 넣고 직류 공급 장치와 연결하여 투과실험을 실시하였다. 먼저 각 pH에서 단순확산에 의한 투과를 조사하였고 anodal 및

cathodal 전류를 적용하였을 때의 flux를 pH 4.0 및 7.4에서 조사하였다. 미리 정해진 시간에 샘플링을 실시하였고 일정 시간 후에는 전류를 끊고 그 후 4시간 동안 추가로 flux를 계속 조사하여 전류 흐름이 단순확산 flux 증가에 미치는 영향도 조사하였다. 또한 pH가 7.4인 수용체 용액에 poly(L-lysine)을 첨가하여 전기삼투압 작용이 flux에 미치는 영향을 조사하였다. 이 전기삼투압 현상의 크기를 평가하기 위해 중성분자인 아세트아미노펜을 이용하여 anodal 및 cathodal 투과 연구를 실시하였는데 그 실험 방법은 공여체 용액으로 아세트아미노펜이 10 mg/ml의 농도로 녹아 있는 25 mM HEPES 완충액 (133 mM NaCl 첨가)을 사용하였고 그 이외에는 상기된 방법과 동일하게 실시하였다.

결과 및 고찰

수동확산

농도구배에 따른 수동확산에 의한 약물의 피부투과가 Figure 1에 나타나 있다. pH 7.4의 경우 케토프로펜은 투과가 일어나지 않았으며 pH 4인 경우 신속한 투과가 일어나 4 시간 후에는 약 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$ 의 flux를 나타내었다. 이같은 결과는 pH 7.4에서 케토프로펜은 대부분 해리된 형태로 있어 (pKa=5.94) 확산에 의한 투과가 어려우며 pH 4.0에서는 대부분 비해리 형태로 존재하게 되어 확산이 가능하기 때문으로 사료된다.

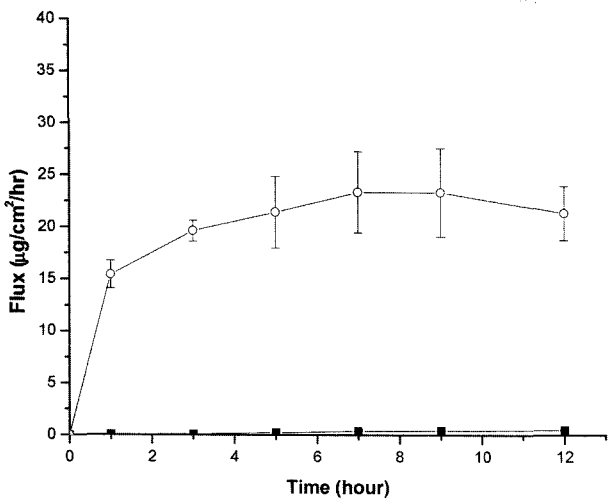


Figure 1—Passive delivery of ketoprofen across hairless mouse skin in vitro at pH 7.4 and 4.0. Both donor and receptor solution were filled with 25 mM HEPES and 133 mM NaCl buffered solution at pH 7.4 or 4.0. Donor solution contained ketoprofen at the concentration of 0.5 mg/ml. Sampling was made for 12 hours. Results are expressed as mean \pm S.D. of three experiments. ■: pH 7.4, ○: pH 4.0.

Electroosmotic flow

피부의 전기가 흐르는 통로의 등전점은 포유동물 피부의 경우 3.5–4.8 사이로 알려져 있다.^{13,14,15} 따라서 생리 pH에서 피부는 음이온으로 하전되어 있어 양이온 permselectivity를 나타내며 그에 의해 발생하는 electroosmotic flow는 anode에서 cathode 쪽으로 일어난다. 이때 이동하는 물에 용해되어 있는 약물들도 같이 이동하게 되므로 단순확산이나 전기적 반발에 의한 투과 이외의 추가적인 약물의 투과 (anode에서 cathode 방향)가 이루어지게 된다. 본 연구에서는 이러한 volume flow에 의한 약물의 이동을 정량적으로 평가하기 위해 실험에 사용된 pH 범위에서 전하를 가지지 않는 중성분자인 아세트아미노펜을 이용하여 전류 적용에 따른 flux의 변화를 조사하였다. 즉 아세트아미노펜의 flux는 전기적 반발에 의한 기여는 없고 단순확산과 electroosmotic flow에 의한 기여만 있으므로 단순확산에 의한 투과를 미리 측정한다면 electroosmotic flow에 의한 flux를 평가할 수 있게 된다.

Figure 2에 단순확산 및 전류적용 (0.4 mA/cm²의 anodal 및 cathodal 전류) 시의 아세트아미노펜의 flux가 나타나 있다. Anodal delivery의 경우 flux는 신속히 증가하여 1시간 지난 다음에 이미 30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$ 의 flux를 나타내었으며 시간에 따라 계속 증가하여 8시간 후에는 약 120 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$ 의 flux를 나타내었다. 전류를 끊은 후에 flux는 신속히 감소하여 12 시간 후에는 약 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$ 의 flux를 나타내었다. 한편 cathodal delivery의 경우는 anodal delivery의 경우에 비해 매우 다른 양상을 나타내었다. 전류를 적용하였을 때 단순확산에 의한 flux 보다는 약간 증가한 flux를 나타내었으나 anodal delivery의 경우에 비해서는 매우 작았고 8시간 후에 약 40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$ 의 flux를 나타내었다. 전류를 끊은 후에 flux는 anodal 경우와 반대로 서서히 증가하였고 12 시간 후에는 약 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$ 의 flux를 나타내었다. 전류를 끊은 후에는 단순확산에 의한 flux만이 일어나기 때문에 anodal 및 cathodal delivery 두 경우 모두 전류를 전혀 적용하지 않은 경우 (flux가 약 5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$)보다 단순확산 속도가 크게 증가하였음을 알 수 있다. 전류의 흐름에 의한 피부의 손상의 정도는 전류의 흐름에 대한 저항과 상관 관계가 있으며¹⁶ 이 저항은 또한 수용성 약물의 피부투과도와 상관관계가 있다고 보고되어 있다.¹⁷ 따라서 본 실험에서의 투과도의 큰 증가는 전류의 적용에 의한 피부 손상 때문으로 판단된다. Cathodal delivery의 경우 전류적용 중의 flux가 전류를 끊은 후의 flux에 비해서 작은 것은 electroosmotic flow의 방향이 anode에서 cathode로 일어나 cathodal flux를 방해하기 때문이다.

한편 전류를 끊고 난 후의 수동확산 flux와 전류를 적용

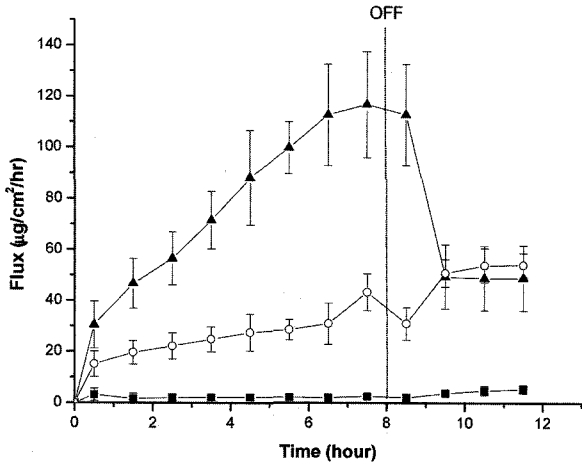


Figure 2—The effect of polarity on electroosmotic flux of acetaminophen across hairless mouse skin in vitro at pH 7.4. Both donor and receptor solution were filled with 25 mM HEPES and 133 mM NaCl buffered solution. Donor solution contained acetaminophen at the concentration of 10 mg/ml. Current of 0.4 mA/cm² was applied for 8 hours. Sampling was made for 12 hours. Results are expressed as mean ± S.D. of three experiments. ■: passive, ○: cathodal, ▲: anodal.

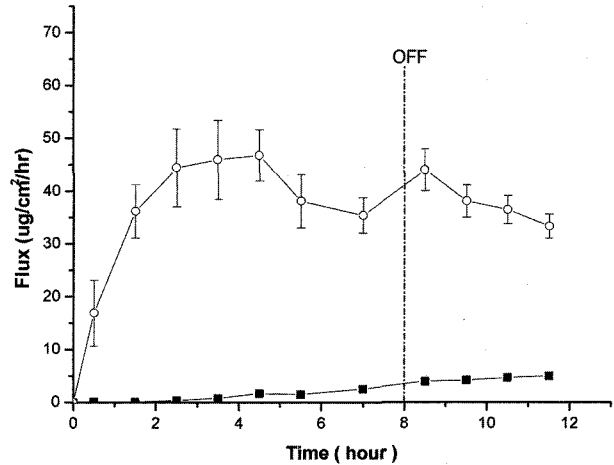


Figure 3—Anodal delivery of ketoprofen across hairless mouse skin in vitro at pH 7.4 and 4.0. Both donor and receptor solution were filled with 25 mM HEPES and 133 mM NaCl buffered solution at pH 7.4 or 4.0. Donor solution contained ketoprofen at the concentration of 0.5 mg/ml. Anodal current of 0.4 mA/cm² was applied for 8 hours. Sampling was made for 12 hours. Results are expressed as mean ± S.D. of three experiments. ■: pH 7.4, ○: pH 4.0.

하였을 때의 flux 차이를 알 수 있으면 donor 용액의 농도를 알고 있기 때문에 전류의 흐름에 의한 electroosmotic flow의 양을 추정해 볼 수 있다. Figure 2를 보면 전류를 적용하였을 때 시간에 따라 flux가 계속 증가하였고 전류를 끊기 전에 약 120 µg/cm²hr의 flux를 나타내었다. 이 기간 동안의 지속적인 증가는 electroosmotic flow가 시간에 따라 점차 증가했기 때문이라고 볼 수는 없으며 피부의 손상 정도가 점차 증가하였기 때문이라고 사료된다.¹⁶⁾ 따라서 이 기간 동안의 평균 flux (약 80 µg/cm²hr)에서 전류를 끊고 난 후의 수동확산 flux를 제한한다면 전류적용 기간 동안의 electroosmotic flow에 의한 flux를 평가할 수 있으며 donor 용액의 농도가 10 mg/ml이므로 약 3.0 µg/cm²hr의 electroosmotic flow가 일어났다고 볼 수 있다. 이러한 flow는 전류적용 시 약물의 종류에 상관없이 일어나므로 electroosmosis에 의해 일어나는 flux를 예측하는데 이용할 수 있다

Anodal delivery

pH 7.4에서 anodal delivery를 실시하였을 때 3 µg/cm²hr 이하의 매우 작은 flux를 나타내었다 (Figure 3). 이는 pH 7.4에서 대부분의 케토프로펜이 해리하여 음전하를 갖고 있어 단순확산에 의한 flux는 일어날 수 없으며 또한 anode와 전기적으로 서로 끌어당기기 때문이다 (pKa=5.94). 한편 전류적용에 의해 anode에서 cathode 방향으로 약 3.0 µg/cm²hr의 electroosmotic flow가 일어나기 때문에 이에 의해 약

1.5 µg/cm²hr의 flux가 electroosmotic flow에 의해 일어난다고 볼 수 있다. pH 4.0에서 anodal delivery에 의한 flux (Figure 3)는 같은 pH에서의 단순확산에 의한 flux (Figure 1) 보다 증가하였는데 전류적용 후 신속한 증가를 나타내었고 약 5 시간 후에 최대 45 µg/cm²hr의 flux에 도달하였고 전류를 끊은 후에는 감소하였다. pH 4.0에서 케토프로펜의 대부분은 전하를 갖고 있지 않기 때문에 정전기적 작용에 의한 flux 감소는 없다고 볼 수 있다. 또한 전기가 흐르는 통로의 등전점이 3.5-4.8 사이로 알려져 있으므로^{13,14,15)} pH 4.0에서는 피부의 permselectivity가 매우 약하거나 사라지기 때문에 electroosmotic flow에 의한 flux도 일어나지 않는다고 볼 수 있다. 그러므로 pH 4.0에서의 큰 flux는 전류적용에 의해 단순확산 투과도가 크게 증가하기 때문으로 사료된다. 전류를 끊은 후의 flux 감소는 전류의 흐름에 의해 증가되었던 피부손상이 서서히 회복되면서 단순확산에 의한 투과도가 감소하기 때문으로 사료된다.

Cathodal delivery

Figure 4에 cathodal delivery를 실시하였을 때 pH 4.0에서의 flux가 나타나있다. 전류세기가 증가할수록 flux는 증가하는 양상을 나타내었으나 약간 증가할 뿐 전류세기에 비례하지는 않았다. 전류세기가 0.2 mA/cm²에서 0.6 mA/cm²로 3배 증가할 때 약 10 µg/cm²hr의 flux 증가를 나타내 약 25%의 증가를 나타내었다. 이는 pH 4.0에서 케토프로펜의 대

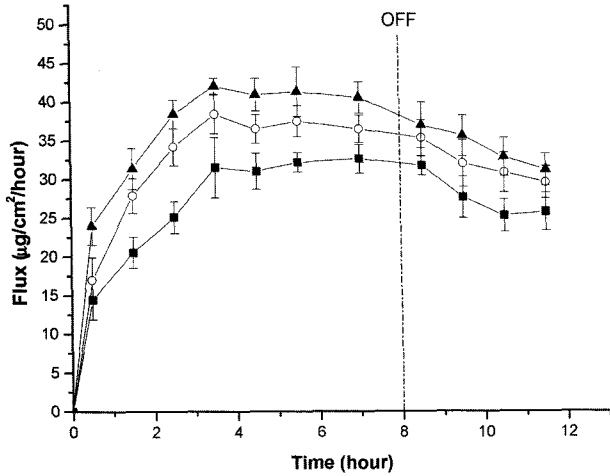


Figure 4—The effect of current density on flux across hairless mouse skin in vitro at pH 4.0. Both donor and receptor solution were filled with 25 mM HEPES and 133 mM NaCl buffered solution at pH 4.0. Donor solution contained ketoprofen at the concentration of 0.5 mg/ml. Cathodal current of 0.2, 0.4 or 0.6 mA/cm² was applied for 8 hours. Sampling was made for 12 hours. Results are expressed as mean ± S.D. of three experiments. ■: 0.2 mA/cm², ○: 0.4 mA/cm², ▲: 0.6 mA/cm².

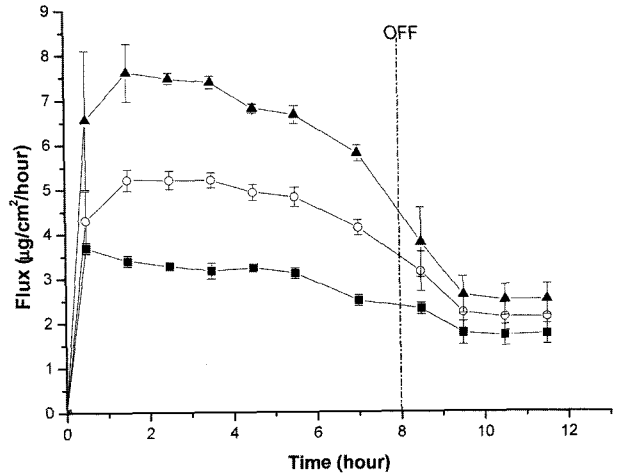


Figure 5—The effect of current density on flux across hairless mouse skin in vitro at pH 7.4. Both donor and receptor solution were filled with 25 mM HEPES and 133 mM NaCl buffered solution at pH 7.4. Donor solution contained ketoprofen at the concentration of 0.5 mg/ml. Cathodal current of 0.2, 0.4 or 0.6 mA/cm² was applied for 8 hours. Sampling was made for 12 hours. Results are expressed as mean ± S.D. of three experiments. ■: 0.2 mA/cm², ○: 0.4 mA/cm², ▲: 0.6 mA/cm².

부분이 전하를 갖고 있지 않기 때문에 정전기적 작용에 의한 flux가 일어나지 않기 때문으로 판단된다. 한편 pH 4.0에서는 상기된 바와 같이 electroosmotic flow에 의한 flux는 일어나지 않는다고 볼 수 있으며 따라서 전체 flux는 pH 4.0에서 anodal delivery 때와 같이 단순확산에 의한 것으로 볼 수 있다. Flux가 전류세기에 따라 약 30–40 µg/cm²hr을 나타내었는데 전류를 전혀 적용하지 않았을 때의 단순확산 flux가 약 20 µg/cm²hr이었으므로 전류적용에 의해 단순확산 flux가 더욱 증가함을 알 수 있다.

Figure 5에 pH 7.4에서의 flux가 나타나있다. 대부분의 케토프로펜은 pH 7.4에서 해리하여 음전하를 갖고 있어 cathodal delivery에 의해 큰 flux 증가가 나타날 것으로 예측되었으나 pH 4.0에서의 단순확산에 의한 flux (Figure 1) 보다는 훨씬 작은 flux를 나타내었다. 한편 flux는 전류세기에 비례하여 증가하는 양상을 나타냈는데 0.2, 0.4 및 0.6 mA/cm²에서의 8 시간까지의 평균 flux를 계산해보면 각각 3.1, 4.8, 6.8 µg/cm²hr을 나타내었고 이는 정전기적 반발에 의한 flux가 일어나고 있음을 알려주고 있다. 정전기적 반발에 의한 flux가 일어남에도 불구하고 이같이 작은 flux가 나타난 이유가 사용한 완충액의 농도가 너무 높거나 등장액을 만들기 위해 완충액에 첨가된 NaCl 때문으로 판단되어 HEPES 및 NaCl의 농도가 낮은 완충액을 사용하여 투과실험을 실시하였다. Figure 6에 HEPES 농도를 0.25 mM, NaCl 농도를 0.133 mM로 낮춰 실험한 결과가 나타나 있다. 5 시

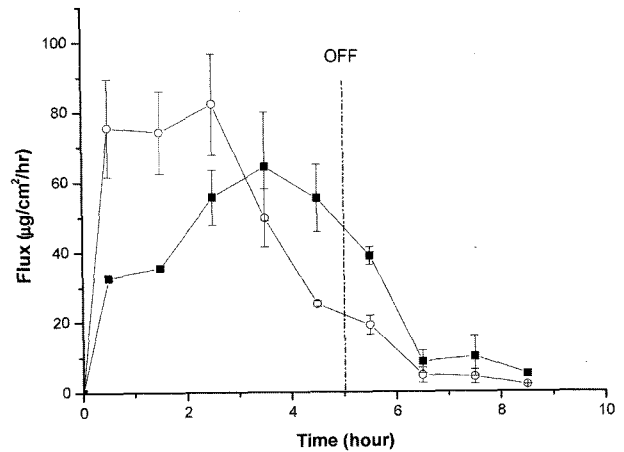


Figure 6—The effect of current density on flux across hairless mouse skin in vitro at pH 7.4. Both donor and receptor solution were filled with 0.25 mM HEPES and 0.133 mM NaCl buffered solution at pH 7.4. Donor solution contained ketoprofen at the concentration of 0.5 mg/ml. Cathodal current of 0.4 or 0.6 mA/cm² was applied for 5 hours. Sampling was made for 9 hours. Results are expressed as mean ± S.D. of three experiments. ■: 0.4 mA/cm², ○: 0.6 mA/cm².

간까지의 평균 flux를 보면 전류세기가 0.4 및 0.6 mA/cm²에서 각각 48.6 및 60.2 µg/cm²hr을 나타내 전류세기에 비례하여 증가하였고 Fig. 5에서의 flux에 비해 약 10 배의 flux 증가를 나타내었다. 전류를 끊고 난 후의 단순확산에 의한 flux는 Figure 4 및 5에서 모두 매우 작은 값을 나타내었는데 이는 대부분의 케토프로펜이 pH 7.4에서 음전하를

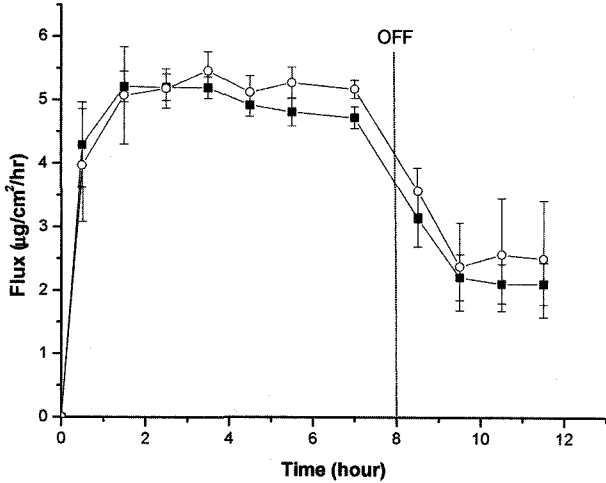


Figure 7—The effect of HEPES buffer concentration on cathodal flux of ketoprofen across hairless mouse skin in vitro at pH 7.4. Both donor and receptor solution were filled with HEPES and 133 mM NaCl buffered solution at pH 7.4. Donor solution contained ketoprofen at the concentration of 0.5 mg/ml. Cathodal current of 0.4 mA/cm² was applied for 8 hours. Sampling was made for 12 hours. Results are expressed as mean ± S.D. of three experiments. ■ : 25 mM, ○: 0.25 mM.

가지고 있기 때문이다. Figure 7에 HEPES 완충액의 농도에 따른 flux가 나타나 있는데 100 배의 농도 차이가 있음에도 flux에 큰 차이를 나타내지는 않았다. 이 같은 결과를 상기된 NaCl 농도의 영향과 비교해볼 때 전기를 운반하는 이온의 mobility가 flux에 큰 영향을 미침을 알 수 있다. 즉 Na⁺나 Cl⁻ 같이 작은 이온의 경우 신속히 전류를 운반할 수 있지만 HEPES 분자는 분자량 (hydrodynamic volume)이 커 전류를 효율적으로 운반할 수 없고 따라서 그 농도에 따른 flux가 큰 차이를 보이지 않는 것으로 사료된다.

Poly(L-lysine)의 영향

이 실험에서는 poly(L-lysine)을 pH 7.4인 receptor 용액에 일정 농도로 녹이고 anode를 연결한 다음 피부 내로 poly(L-lysine)을 정전기적 반발에 의해 침투시켰을 때 donor 용액 (cathode 연결)에 용해되어 있는 케토프로펜의 피부 flux가 어떻게 영향을 받는지를 조사하였다. Poly(L-lysine)은 음으로 하전되어 있는 피부의 약물이 투과하는 통로로 침투하여 음이온과 결합하여 피부의 permselectivity를 변화시켜 electroosmosis의 정도나 방향을 변화시킴으로써 약물의 flux를 변화시킨다고 알려져 있으며 poly(L-lysine) 이외에도 여러 가지 약물 (b-blockers, LHRH analog)들이 electroosmosis에 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다.¹⁸⁾ Donor 및 receptor 용액으로 25 mM HEPES (133 mM NaCl 함유) 완충액을 사용하였을 때의 결과가 Figure 8에 나타나있다. Receptor

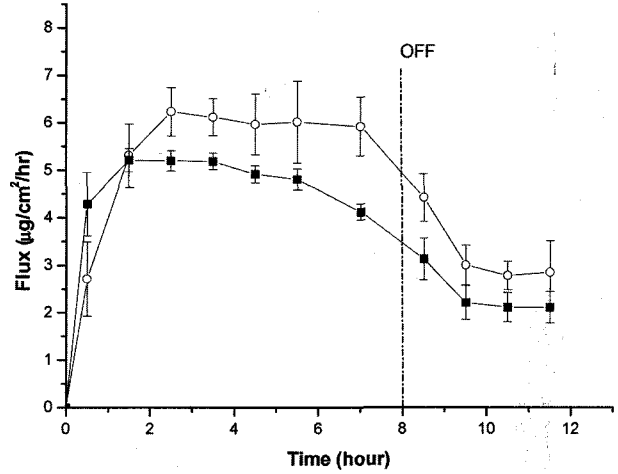


Figure 8—The effect of poly(L-lysine) on cathodal flux of ketoprofen across hairless mouse skin in vitro at pH 7.4. Both donor and receptor solution were filled with 25 mM HEPES and 133 mM NaCl buffered solution at pH 7.4. Donor solution contained ketoprofen at the concentration of 0.5 mg/ml and receptor solution contained poly(L-lysine). Cathodal current of 0.4 mA/cm² was applied for 8 hours. Sampling was made for 12 hours. Results are expressed as mean ± S.D. of three experiments. ■: 0 mg/ml, ○: 1.0 mg/ml.

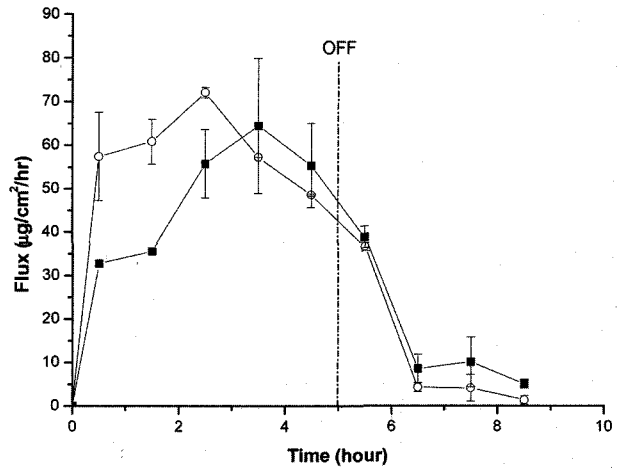


Figure 9—The effect of poly(L-lysine) on cathodal flux of ketoprofen across hairless mouse skin in vitro at pH 7.4. Both donor and receptor solution were filled with 0.25 mM HEPES and 0.133 mM NaCl buffered solution at pH 7.4. Donor solution contained ketoprofen at the concentration of 0.5 mg/ml and receptor solution contained poly(L-lysine). Cathodal current of 0.4 mA/cm² was applied for 5 hours. Sampling was made for 9 hours. Results are expressed as mean ± S.D. of three experiments. ■: 0 mg/ml, ○: 1.0 mg/ml.

용액에 poly(L-lysine)을 첨가하였을 때 및 첨가하지 않았을 때 평균 flux가 각각 5.5 및 4.7 µg/cm²hr을 나타내 poly(L-lysine)에 의해 flux가 증가됨을 알 수 있다. Flux가 증가된 이유는 poly(L-lysine)이 anode (receptor)에서 cathode (donor) 방향으로 흐르는 electroosmotic folw를 억제함으로써 cathode

에서 anode 방향으로 흐르는 약물의 흐름을 원활히 하기 때문으로 생각된다. Figure 9에 donor 및 receptor 용액으로 0.25 mM HEPES (0.133 mM NaCl 함유) 완충액을 사용하였을 때의 결과가 나타나있다. 전류적용 기간 중의 평균 flux를 비교해보면 poly(L-lysine)를 첨가하였을 때 및 첨가하지 않았을 때 각각 59 및 49 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$ 을 나타내 약 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{hr}$ 의 flux 증가가 electroosmotic flow의 억제에 의해 일어났음을 알 수 있다.

결 론

본 연구 결과는 이온토포레시스에 의한 케토프로펜의 경피투과에 영향을 미치는 포물레이션의 영향 및 전기삼투압의 역할에 대해 중요한 정보를 제공하고 있다. 용액의 pH 및 전해질의 농도가 flux에 큰 영향을 나타냈으나 완충액 농도는 flux에 미치는 영향이 미미 하였다. 진하를 갖지 않는 아세트아미노산을 이용한 electroosmosis 현상을 연구한 결과 시간 당 약 3.0 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ 의 electroosmotic flow가 일어남을 알았다. 또한 피부의 permselectivity를 변화시키는 양이온화합물을 이용하여 electroosmosis를 조절하여 flux를 변화시킬 수 있음을 알았다. 이온토포레시스를 이용한 케토프로펜의 패취 개발 시 이 같은 지견을 종합적으로 고려하여야 최적의 조건을 가진 이온토포레시스 시스템을 개발할 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 숙명여자대학교 2003년도 교내연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

문 헌

- 1) S. Chong, and H.L. Fung, Transdermal drug delivery systems: pharmacokinetics, clinical efficacy, and tolerance development, *Transdermal Drug Delivery: J. Hadgraft and R.H. Guy Ed., Developmental Issues and Research Initiatives*, Marcel Dekker, New York, p. 135 (1989).
- 2) M.C. Audet, M. Moreau, W.D. Koltun, A.S. Waldbaum, G. Shangold, A.C. Fisher and G.W. Creasy, Evaluation of contraceptive efficacy and cycle control of a transdermal contraceptive patch vs. an oral contraceptive: a randomized

- controlled trial. *JAMA*, **285**(18), 2347-2354 (2001).
- 3) Electronic Orange Book. Food and Drug Administration.
- 4) Retail and Provider Perspective. *IMS Health* (2001).
- 5) M.J. Pikal, S. Shah, Transport mechanisms in iontophoresis. III. An experimental study of the contributions of electroosmotic flow and permeability change in transport of low and high molecular weight solutes, *Pharm. Res.*, **7**, 222-229 (1990).
- 6) R.H. Guy, Y.N. Kalia, M.B. Delgado-Charro, V. Merino, A. Lopez and D. Marro, Iontophoresis: Electrorepulsion and electroosmosis, *J. Contr. Rel.*, **64**, 129-132 (2000).
- 7) J. Hirvonen, Y.N. Kalia and R.H. Guy, Transdermal delivery of peptides by iontophoresis, *Nature Biotech.*, **14**, 1710-1713 (1996).
- 8) J. Hirvonen and R.H. Guy, Iontophoretic delivery across the skin: Electroosmosis and its modulation by drug substances, *Pharm. Res.*, **14**, 1258-1263 (1997).
- 9) S.C. Chi and H.W. Jun, Anti-inflammatory activity of ketoprofen gel on carrageenan induced paw edema in rats, *J. Pharm. Sci.*, **79**, 974-977 (1990).
- 10) A.R. Gennaro, Remington: The Science and practice of pharmacy, 19th Ed., Mack Publishing Company, Easton, pp. 1207-1218 (1995).
- 11) J. Jacobs, A.G. Golstein, M.E. Kelly and B.S. Bloom, NSAIDs dosing schedules and compliance, *Drug. Intell. Clin. Pharm.*, **22**, 726-727 (1988).
- 12) M.F. Cuthbert, Adverse reactions to non-steroidal anti-rheumatic drugs, *Curr. Med. Res. Opin.*, **2**, 600-609 (1974).
- 13) V. Merino, A. Lopez, Y.N. Kalia and R.H. Guy, Electrorepulsion versus electroosmosis: effect of pH on the iontophoretic flux of 5-fluorouracil, *Pharm. Res.*, **16**, 758-761 (1999).
- 14) B.D. Bath, H.S. White and E.R. Scott, Visualization and analysis of electroosmotic flow in hairless mouse skin, *Pharm. Res.*, **17**, 471-475 (2000).
- 15) D. Marro, R.H. Guy and M.B. Delgado-Charro, Characterization of the iontophoretic permselectivity properties of human and pig skin, *J. Contr. Rel.*, **70**, 213-217 (2001).
- 16) S.Y. Oh and R. Guy, Effect of iontophoresis on the electrical properties of human skin *in vivo*, *Int. J. Pharm.*, **124**, 137-142 (1995).
- 17) R.R. Burnette and T.M. Bagniefski, The influence of constant current iontophoresis on the impedance and passive permeability of excised nude mouse skin, *J. Pharm. Sci.*, **77**, 492-497 (1988)
- 18) J. Hirvonen and R.H. Guy, Attenuation of electroosmotic flow during transdermal iontophoresis. II. Effect of b-blocking agents, *Proc. Int. Sympo. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **24**, 691-692 (1997).