

## 하이드로겔을 이용한 비타민 C-인산염의 이온토포레시스 피부투과

오승열

숙명여자대학교 약학대학

(2007년 5월 23일 접수 · 2007년 6월 8일 승인)

### Iontophoretic Delivery of Vitamine C-2-phosphate from Carbopol Hydrogel

Seaung-youl Oh

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, 53-12 Chungpa-Dong 2 ka Yongsan-goo, Seoul, Korea

(Received May 23, 2007 · Accepted June 8, 2007)

**ABSTRACT** – In order to develop an optimum formulation for iontophoretic delivery of vitamine C-2-phosphate (VCP) from Carbopol hydrogel, we have investigated various factors which can affect the iontophoretic flux through skin. Such factors as drug concentration, current density, current profile, current duration, ionic strength, pH and percutaneous enhancers (ethanol, glycerine, propylene glycerol, sorbitol, urea) were studied. Compared to the flux by passive or anodal delivery, the flux by cathodal delivery increased markedly, and thus, only cathodal delivery was used in the rest of the flux experiments. Flux increased linearly as the drug concentration and current density increased. As the duration of current application increased from 30 min to 120 min, flux increased linearly, however the AUC was not directly proportional to the applied amount of current. Flux also increased as the pH increased, possibly due to the increase in ionization of phosphate group. As the ionic strength increased, flux decreased. No significant increase in flux was observed after enhancer application, indicating that the effect of current on flux is dominating over the effect of percutaneous enhancers ( $P > 0.05$ ). These results provide important informations that are needed for optimal formulation of iontophoretic delivery for VCP.

**Key words** – Vitamine C-2-phosphate, Iontophoresis, Enhancer, Carbopol

피부는 자외선에 장시간 노출되게 되면 활성산소 발생에 따른 광노화 현상이 일어나 주름과 노화반점이 생기게 된다.<sup>1)</sup> Vitamin C는 이러한 활성산소에 의한 손상으로부터 인체를 지켜주는 역할을 하는 주된 보호제의 하나이다. 특히 피부 내에서는 주된 수용성 항산화제로서 활성산소를 제거하고 지질과 세포막의 보호 역할을 하는 vitamin E의 활용도를 높여주는 역할을 하며 또한 타이로시나제 효소의 활성을 억제하여 멜라닌 색소의 생성을 억제함으로써 기미를 치료하고 미백 효과를 나타내며 활성산소나 radical을 강력하게 제거하는 역할로 주름생성도 억제한다고 알려져 있다.<sup>2-5)</sup> Vitamin C는 인체 내에서 합성되지 않으며 대부분이 음식을 통해 섭취된다. 음식을 통한 섭취 시 피부로의 분포되는 양은 피부가 체내 조직의 약 8%를 차지하고 있어서 이와 비슷한 비율이 분포된다고 판단된다. 미백이나 주름 개선 등의 국소적 효과를 위한 vitamin C의 투여 시 피부에서의 vitamin C의 농도를 보다 효율적으로 높이는 방법은 음식이나 경구투여를 통한 전신 분포에 의한 방법보다 피부에 직접 적용하여

피부를 통해 흡수시키는 방법이다.

Vitamin C는 수용성이며 따라서 피부의 각질층을 통한 투과도가 매우 낮으며 또한 매우 불안정하여 공기 중에서나 제형 내에서 쉽게 산화되어 그 활성을 잃는 것으로 알려져 있다.<sup>6-7)</sup> 이러한 불안정성을 극복하기 위해 피부 내로 흡수된 후 L-ascorbic acid로 변하는 ascorbyl palmitate, ascorbyl dipalmitate, ascorbyl stearate, ascorbyl magnesium phosphate 등의 다양한 전구약물이 개발되어 사용되고 있다.<sup>8-12)</sup> 그러나 이러한 유도체들을 단순히 피부에 적용하여 농도 구배에 의한 투여를 하였을 때 치료효과를 나타내기에 충분한 양이 투과되지 못하는 단점이 있다. 한편 palmitate 유도체들은 인산염 유도체에 비해 지용성으로서 피부투과에는 유리하나 피부 내의 세포 내로 이동이 잘 이루어지지 않아 L-ascorbic acid로 변하는 효율이 낮은 것으로 알려져 있다.<sup>13)</sup>

이러한 유도체들의 낮은 투과도를 개선하고 기미치료, 미백 및 주름개선효과를 얻기 위해 충분한 양의 비타민 C를 피부 내로 침투시키기 위해 본 연구에서는 이온토포레시스를 이용한 경피 전달을 시도하였다. 이온토포레시스는 전기적인 반발력을 이용하여 약물의 피부 내 투과도를 증진시키는 방법으로 vitamin C 인산염이 중성 pH에서 음의 전하를

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

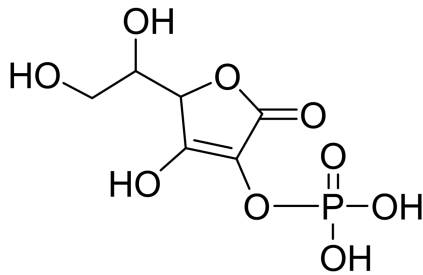


Figure 1—Structure of vitamin C-2-phosphate (VCP).

갖게 되므로 음극에서 전기적 반발이 일어나 피부 내로 투과가 크게 증가하게 된다.<sup>14)</sup> 비타민 C 유도체의 이온토포레시스는 진피까지 비타민 C를 침투시킬 수 있어 단순한 피부 적용만으로는 치료가 어려웠던 진피형과 혼합형의 기미에도 높은 치료효과를 나타낼 수 있고 매우 낮은 전류를 사용하므로 피부에 손상을 주지 않으며 전류세기를 조절함으로써 피부투여량을 쉽게 조절할 수 있는 장점이 있다.<sup>15-17)</sup>

본 연구에서는 vitamin C-2-phosphate(VCP, Figure 1)를 함유한 Carbopol 하이드로겔을 제조하고 이 하이드로겔을 이용하여 이온토포레시스를 실시하여 극성, 약물농도, 전류세기, 전류적용시간, 전류적용패턴, 이온강도, pH 및 피부투과 증진제들이 피부투과에 미치는 영향을 조사하였다. 본 연구에 사용된 하이드로겔은 Carbopol을 이용하여 제조하였는데 Carbopol은 약간 가교된 poly(acrylic acid)로서 중성 pH에서 carboxyl 기의 이온화에 의해 자체 부피보다 수십-수백 배까지 물을 흡수하여 팽창할 수 있으며 controlled release 나 국소제형의 thickening agent 로 많이 사용되고 있다.<sup>18-20)</sup> 사용된 피부투과증진제들은 하이드로겔 내에 녹아 있을 수 있어야하므로 수용성인 투과증진제들을 선택하였다.

## 실험 방법

### 시약 및 기기

Vitamin C-2-phosphate(VCP)는 Sigma사(St. Louis, Mo, U.S.A.)에서 Carbopol 971P-NF은 BF Goodrich사 (Cleveland, Ohio, U.S.A.)에서 구입하였다. Phosphate buffered saline(이하 PBS) 제조에 사용된  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , NaCl은 덕산이화학(Seoul, Korea)에서 구입하였으며, KCl은 Yakuri Pure chemical사(Tokyo, Japan)에서 구입하였다. 실험에 사용된 증류수는 Nanopure water system (Barnstead, Iowa, U.S.A.)을 사용하여 제조하였으며 HPLC에 사용된 acetonitrile, methanol(HPLC grade),  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 과 피부투과증진제로 사용한 ethanol, glycerin, propylene glycol, sorbitol, urea는 덕산이화학(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 피부투

과 실험을 위한 확산 cell은 donor chamber 및 receptor chamber의 부피가 최소 (1 ml)가 되도록 유일과학(주) (Pusan, Korea)에서 제작한 것을 사용하였고 donor 및 receptor cell 용액의 stirring 목적으로 multi-stirrer(Electronicruhrer Poly 15, Variomag, Germany)를 사용하였고 실험 기간 중의 온도는 항온조절이 가능한 incubator (SI-900, Jeio Tech, Ansan, Korea)를 사용하였다. DC power supply는 Power Tech Co.(Ansan, Korea)에 의뢰 제작한 PT70-10MDC를 사용하였다.

### 전극의 제조

전극으로는 막대형 Ag/AgCl 전극과 판상의 Sn/SnCl<sub>2</sub> 전극을 자체 제작하여 사용하였는데 막대기형 전극은 직경 1 mm의 Ag wire(Aldrich, 99.9%, Milwaukee, WI, U.S.A.)의 한쪽 끝 부분을 AgCl(Aldrich, 99.9%) 용액에 수회 침적시켜 제조하였고 판상의 Sn/SnCl<sub>2</sub> 전극은 polyester film 위에 30  $\mu\text{m}$  두께로 Sn 입자(덕산이화학, Seoul, Korea)를 입힌 다음 이를 산화시켜 제조하였다.

### VCP 용액 및 하이드로겔 제조

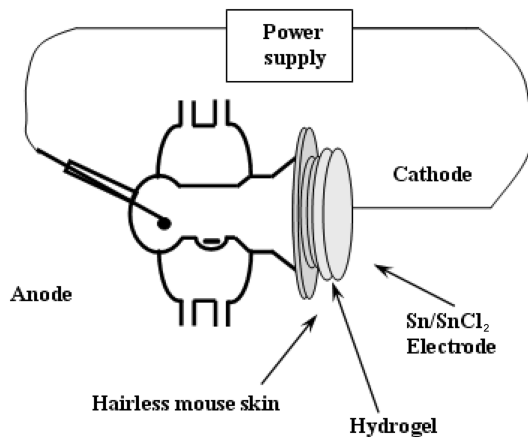
약물 함유 Carbopol 하이드로겔은 증류수에 약물농도가 2.5, 5.0, 7.5% (w/v)가 되도록 VCP를 녹인 후 이 VCP 수 용액에 Carbopol을 3% (w/v)가 되도록 넣고 완전히 용해될 때까지 교반하여 제조하였다.

### 정량

VCP의 정량은 HPLC를 이용하였다.<sup>21)</sup> 사용된 HPLC system으로는 Shimadzu(Kyoto, Japan)사의 CBM-10A system과 SIL-10A auto injector를 사용하였고, 컬럼으로는 Waters사 (Milford, MA, U.S.A.)의 Spherisorb(5  $\mu\text{m}$ , 4.6 $\times$ 250 mm) 아민 컬럼을 사용하였으며 온도는 37°C를 유지하였다. Acetonitrile:phosphate buffer(0.3 M, pH 4.0)=45:55 비율의 이동상을 사용하였고, flow rate은 isocratic으로 1.0 ml/min이었고 injection volume은 30  $\mu\text{l}$ 였다. Detector로는 UV를 사용하였고 254 nm에서의 흡광도를 측정하여 정량하였다.

### In vitro 약물 투과 실험

경피투과 실험은 8 주된 hairless mouse의 full-thickness skin과 내용량 1 mL, 투과면적 0.5 cm<sup>2</sup>의 side-by-side diffusion cell을 사용하여 36.5°C incubator에서 실시하였다. Side-by-side diffusion cell 사이에 무모생쥐의 피부를 놓고 고정시킨 다음 VCP를 함유한 하이드로겔을 피부 위에 일정량 (20  $\mu\text{l}$ ) 점적하고 Sn/SnCl<sub>2</sub> 전극을 덮은 후 투과실험을



**Figure 2**—Schematic diagram showing iontophoretic delivery of VCP from hydrogel: VCP loaded hydrogel is the donor and pH 7.4 phosphate buffer is the receptor solution. NaCl concentration was 133 mM.

실시하였다 (Figure 2). Receptor cell에는 PBS (pH 7.4) 용액을 채웠으며 미리 정해진 시간 마다 receptor 용액 전체를 취하여 HPLC를 이용하여 정량하였고 receptor cell에는 새 PBS 용액을 채워 넣었다. Flux에 영향을 미치는 극성 (anodal, cathodal, passive), 약물농도, 전류세기, 전류적용시간, 전류적용패턴, 이온강도, pH 및 피부투과증진제들의 피부투과에 미치는 영향을 조사하였다.

**통계학적 처리**

통계학적 분석이 필요한 경우 paired student's t-test를 실시하였으며, *p* 값이 0.05 미만일 경우에 통계학적으로 유의성 있는 차이가 있다고 판단하였다.

**결과 및 고찰**

이온토포레시스에 의한 피부투과도(flux)는 Nernst-Planck 식으로 나타내어질 수 있다.<sup>22)</sup>

$$J = -D \left( \frac{dC}{dx} + \frac{CzF}{RT} \frac{dV}{dx} \right) + vC$$

$$J = J_{diffusion} + J_{electrorepulsion} + J_{volume\ flow}$$

상기 식에서 D는 확산계수, C는 donor 측의 농도, x는 막의 두께, z는 전하의 수, R은 기체상수, T는 절대온도, V는 전기포텐셜, v는 electroosmosis에 의한 volume flow의 크기를 나타낸다. 즉 이온토포레시스에 의한 flux는 세가지에 의해 일어날 수 있는데 농도구배에 의해 발생하는 확산에 의한 flux, 전기포텐셜구배에 따른 전기적 반발에 의한 flux 그리고 용액의 volume flow에 의해 용액 중에 녹아

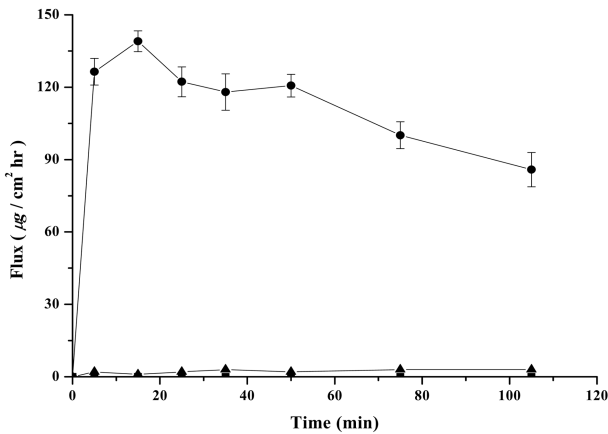
있는 약물이 액체와 동시에 이동하는 flux의 세가지를 말한다. 이 식에 따르면 확산에 의한 flux가 작은 이온의 경우에 donor 측 약물농도가 증가하면 flux도 정비례하여 증가해야 함을 알 수 있으며 적용전압이 크면 또한 flux가 증가함을 알 수 있다.

전기적 반발은 전극과 전하를 가진 약물 사이의 정전기적 작용에 의한 것이고 확산은 농도기울기 즉 화학퍼텐셜의 차이에 의한 flux이며 약물공여층과 약물수용층 사이의 약물의 농도 차이에 의한 것이다. 전기삼투(electroosmosis) 현상은 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<sup>+</sup>의 transport number=0.7) 전기이중층 및 주위의 물분자들이 cathode쪽으로 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.<sup>23-24)</sup>

이온토포레시스 시 flux의 변화는 또한 전류세기, 전류적용시간, 전류적용 패턴, 약물농도, 외부이온농도, pH 및 함께 투여하는 투과증진제 등의 영향을 받게 된다. 특히 적용 전류의 세기가 커질수록 전기적 반발에 의한 flux 뿐 아니라 확산 및 전기삼투에 의한 flux도 증가하게 되는데 이는 전기에 의한 피부의 손상에 따른 투과도의 증가 및 전기삼투흐름이 증가하기 때문이다.<sup>25)</sup> 아래에 각각의 인자들에 대한 결과가 나타나 있다.

**전극의 영향**

극성에 따른 투과도의 변화를 조사하기 위하여 수동, 양극 및 음극 전달(passive, cathodal 및 anodal delivery)을 0.4 mA/cm<sup>2</sup>의 전류세기에서 실시하고 그 투과도를 서로 비교하였는데 그 결과가 Figure 3에 나타나 있다. 하이드로겔에 함유된 약물수용액의 농도는 5%(w/v)이었다. Anodal delivery 시 약물투과속도는 0에 가까운 값을 나타내었으며 passive delivery 시와 비슷한 양상을 보였다. 이 결과는 anode에서 cathode 쪽으로의 electroosmosis에 의한 약물의 투과는 무시할 수 있을 정도로 작음을 알려주고 있다. Cathodal delivery 시에는 전류적용 후 불과 5분 만에 120 µg/cm<sup>2</sup>hr 이상의 큰 flux를 보였으며 약 15분 후에 최

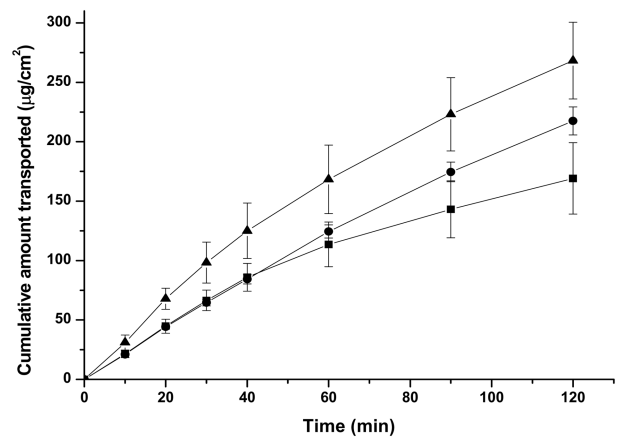


**Figure 3**—The passive and iontophoretic flux of VCP across hairless mouse skin *in vitro* from Carbopol hydrogel. Direct current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 2 hours in the presence of 133 mM of NaCl. Drug concentration in the hydrogel was 5% (w/v). Data represents mean±S.D. (n=3). Flux by cathodal delivery was significantly different from that by passive or by anodal delivery (*p*<0.05).

Key; ■ : Passive delivery, ● : Cathodal delivery, ▲ : Anodal delivery.

대 139 µg/hrcm<sup>2</sup>의 flux를 나타내었다. 한편 25분 후부터 50분 까지는 flux가 약 120 µg/cm<sup>2</sup>hr정도가 유지되었으며 그 후 점차 flux가 감소하였다. 이는 donor 쪽의 약물의 농도가 서서히 감소하기 때문으로 판단된다. 이같이 cathodal deliver의 flux가 크게 나타난 것은 VCP가 Carbopol 하이드로겔 내에서 음이온으로 존재하고 있음을 알려주고 있으며 따라서 본 연구에서는 이후의 모든 실험을 donor쪽에는 cathode, receptor쪽에는 anode를 연결하는 cathodal delivery로 실험을 실시하였다. 특히 0.4 mA/cm<sup>2</sup>의 전류세기에서 불과 5-10분 만에 flux가 120 µg/cm<sup>2</sup>hr 이상을 나타낸 것은 이온토포레시스에 의해 VCP의 피부투과가 거의 lag time이 없이 신속히 이루어지고 있음을 보여주고 있다.

Anodal delivery의 flux가 확산의 경우와 거의 같은 미미한 수준으로 나타났는데 이는 전기삼투 작용에 의한 flux가 미우 미미하기 때문이며 또한 서로 반대의 전하를 가진 전극과 약물의 전기적인 친화력에 의해 약물의 피부로의 흐름이 저지되었기 때문이다. 특히 전기삼투의 역할을 고려해보면 보통 시간 당 약 3 µl/cm<sup>2</sup> 정도의 크기로 일어난다고 할 때<sup>26)</sup> donor hydrogel 내의 약물의 수용액의 농도가 5% w/v (5 g/100 ml 또는 50 µg/µl)이므로 시간 당 약 150 µg의 투과가 일어나야 하며 2 시간 동안에는 약 300 µg의 투과가 일어나야 한다. 그러나 실제로 anodal 전달에 의한 투과가 매우 미미하며 이는 하이드로겔로부터 피부 내로의 전기삼투 작용이 매우 미미하며 또한 전극과 약물의 전기적 인력이 강하게 작용한 것 때문이라 사료된다.



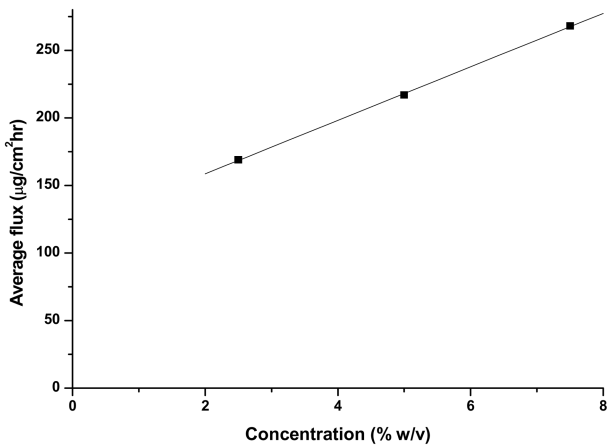
**Figure 4**—The effect of drug concentration (% w/v) on iontophoretic flux from Carbopol hydrogel across hairless mouse skin *in vitro*. Direct current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 2 hours in the presence of 133 mM of NaCl. Data represents mean±S.D. (n=6).

Key; ■ : 2.5%, ● : 5.0%, ▲ : 7.5%.

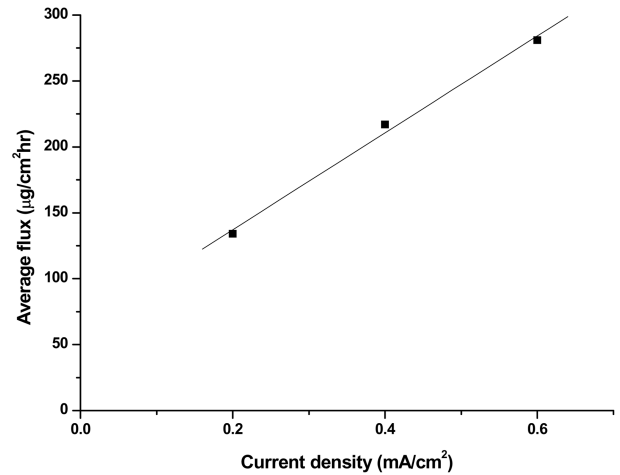
**약물농도의 영향**

약물의 농도가 flux에 미치는 영향을 검토하기 위하여 하이드로겔 내의 약물 농도를 2.5, 5.0 및 7.5% (w/v)로 하여 0.4 mA/cm<sup>2</sup> 세기로 2시간 전류를 적용했을 때의 시간에 따른 누적투과량이 Figure 4에 나타나있다. 약물의 농도가 증가함에 따라 누적투과량은 증가하였는데 농도가 2.5% 일 때 2시간 동안의 누적투과량은 169 µg/cm<sup>2</sup>hr이었으며 5.0% 일 때는 217 µg/cm<sup>2</sup>hr, 7.5% 일 때는 268 µg/cm<sup>2</sup>hr로 나타났다. 2.5% 일 때의 투과량을 1.0으로 하였을 때 5.0% 일 때는 1.3, 7.5% 일 때는 1.6으로 나타나 농도 증가에 따라 같은 배수의 증가를 보이지는 않았으며 특히 농도가 높을수록 전달효율이 낮아지는 결과를 관찰하였다. 피부 내에서 전류가 흐르는 부분 또는 전하를 가진 약물이 통과되는 부분은 피부부속기관인 털구멍이나 땀구멍으로 알려져 있다.<sup>27, 28)</sup> 농도에 정비례하지 않은 이유는 이 같은 피부부속기관에서의 약물의 포화에 따른 투과효율의 감소가 한가지 이유라 판단되며 따라서 본 실험에서 사용했던 농도보다 낮은 농도에서 실험을 한다면 보다 정비례적인 투과를 보일 것이라고 사료된다. 한편 농도를 x축으로 하고 2 시간 동안의 총투과량을 시간으로 나눈 평균 flux를 y축으로 하여 플롯하여 보면 농도 증가에 따라 직선적 증가 (R<sup>2</sup>=0.9997)를 나타냄을 알 수 있다 (Figure 5).

대부분의 약물의 경우에 농도가 증가하면 flux도 증가하나 지용성이 매우 강하고 양전하를 가지며 분자량이 큰 약물 중에는 오히려 농도가 증가하면 flux가 감소하기도 한다. Nafarelin이나 propranolol같은 약물이 이런 현상을 보이며 최근에는 dopamine agonist인 ropinirole도 이 같은 결과를

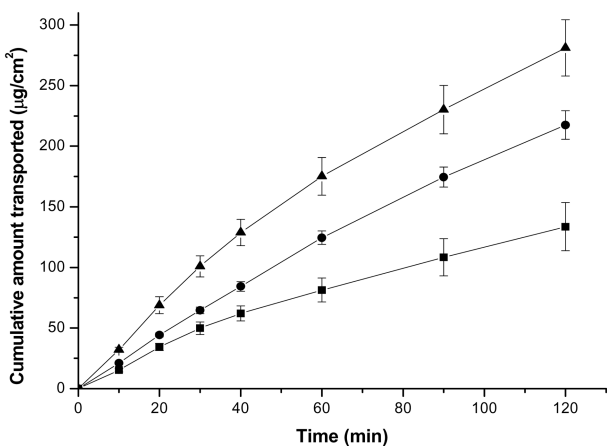


**Figure 5**—The correlation of average flux versus drug concentration during iontophoresis. Direct current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 2 hours in the presence of 133 mM of NaCl.



**Figure 7**—The correlation of average flux versus current density during iontophoresis. Direct current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 2 hours in the presence of 133 mM of NaCl.

보이는 것으로 보고 되었는데 이 이유는 피부 내 전기를 통하는 통로에 이 약물들이 결합하여 피부의 전하를 중성화시킴으로써 전기삼투압 작용을 약화시키는 것에 기인한다고 추측된다.<sup>29-31)</sup> 본 실험의 경우 VCP가 음전하를 가지고 있어 cathodal delivery를 실시하였는데 VCP의 전류가 통과하는 통로에서의 결합은 미미할 것으로 판단되며 volume flow의 방향은 오히려 음극 쪽으로 일어나 전기적 반발에 의한 투과를 방해하게 된다. 그럼에도 불구하고 약물의 농도가 증가함에 따라 flux도 증가함을 보았는데 이 결과는 VCP의 피부투과에 전기적 반발이 주된 역할을 하고 있음을 알려주고 있다.



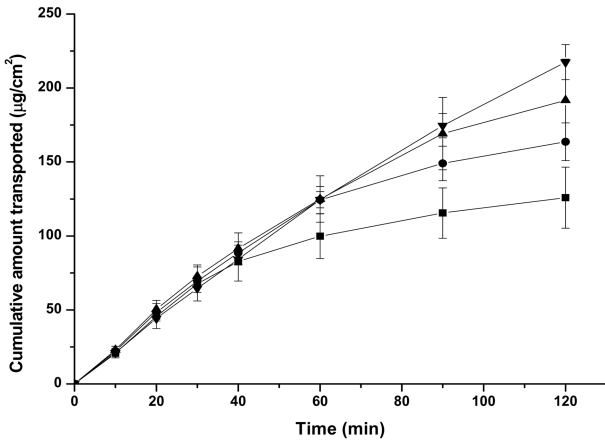
**Figure 6**—The effect of current density on iontophoretic flux from Carbopol hydrogel across hairless mouse skin *in vitro*. Drug concentration in the hydrogel was 5% (w/v) and the concentration of NaCl was 133 mM. Data represents mean ± S.D. (n=6). Key; ■: 0.2 mA/cm<sup>2</sup>, ●: 0.4 mA/cm<sup>2</sup>, ▲: 0.6 mA/cm<sup>2</sup>.

**전류밀도의 영향**

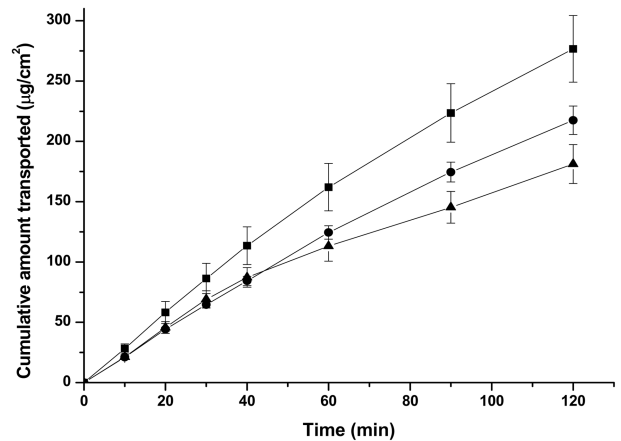
이 연구에서는 하이드로겔 내의 약물 농도를 5.0 (w/v)로 하여 전류세기를 증가시켜가면서 전류세기가 flux에 미치는 영향을 조사하였다. 전류밀도를 0.2, 0.4 및 0.6 mA/cm<sup>2</sup>로 변화시키고 2시간 동안 전류를 적용하였다. Figure 6에 나타난 바와 같이 전류세기가 증가할수록 즉 흘려준 전류량이 클수록 누적투과량 또는 flux가 증가하였다. 전류세기가 0.2 mA/cm<sup>2</sup> 일 때 누적투과량은 134 µg/cm<sup>2</sup>hr이었으며 0.4 mA/cm<sup>2</sup> 일 때는 217 µg/cm<sup>2</sup>hr, 0.6 mA/cm<sup>2</sup> 일 때는 281 µg/cm<sup>2</sup>hr로 나타났다. 즉 0.2 mA/cm<sup>2</sup>의 전류적용 시에 비해 0.4 mA/cm<sup>2</sup>의 전류적용 시 누적투과량이 1.6배 증가하였고 0.6 mA/cm<sup>2</sup> 적용 시 약 2.1배의 증가를 나타내 누적투과량이 전류밀도에 따라 증가하였는데 농도를 x축으로 하고 2시간 동안의 총투과량을 시간으로 나눈 평균 flux를 y축으로 하여 플롯하여 보면 전류밀도(전류세기)의 증가에 따라 직선적 증가(R<sup>2</sup>=0.9945)를 나타냄을 알 수 있다 (Figure 7). 이 같은 결과는 농도 증가에 따른 투과도 증가와 함께 중요한 의미를 갖고 있는데 즉 약물의 투여 시 투과도가 농도와 전류세기에 직선적으로 의존하므로 투여 용량을 조절하기가 용이하다는 점이다.

**전류적용시간의 영향**

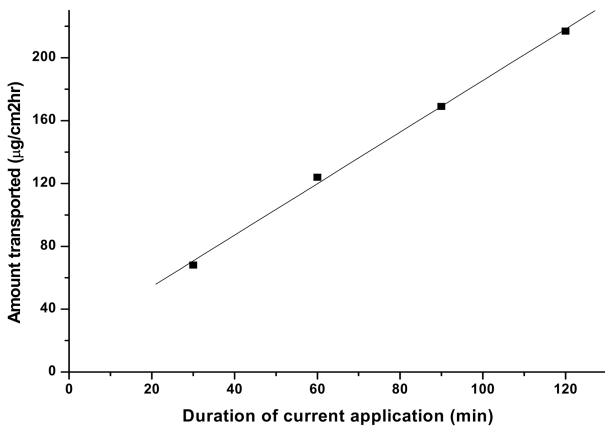
본 연구에서는 약물농도와 전류세기를 고정하고 전류량을 조절하여 flux에 어떤 영향을 미치는지 검토하여 보았다. 전류를 적용한 후 30, 60, 90분에 전류를 끊고 나머지 시간은 passively로 투과시킨 결과가 120분 간 전류를 적용한 경우와 함께 Figure 8에 나와 있다. 한편 전류 적용시간이 30, 60, 및 90분인 경우 2시간 동안 누적투과량은 126, 164,



**Figure 8**—The effect of duration of current application on the flux from Carbopol hydrogel across hairless mouse skin *in vitro*. Drug concentration in the hydrogel was 5% (w/v) and the concentration of NaCl was 133 mM. Direct current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 30, 60, 90, 120 minutes. Data represents mean±S.D. (n=6).  
Key; ■ : 30 min application, ● : 60 min application, ▲ : 90 min application, ▼ : 120 min application.



**Figure 10**—The effect of ionic strength on iontophoretic flux from Carbopol hydrogel across hairless mouse skin *in vitro*. Drug concentration in the hydrogel was 5% (w/v). Direct current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 2 hours in the presence of 133 mM of NaCl. Data represents mean±S.D. (n=6).  
Key; ■ : 67 mM NaCl, ● : 133 mM NaCl, ▲ : 266 mM NaCl.



**Figure 9**—The effect of duration of current application on the transport of VCP.

192 µg/cm<sup>2</sup>hr이었으며 2시간 연속 적용 시는 217 µg/cm<sup>2</sup>hr이었다. Figure 9를 보면 전류세기(전류세기)가 일정할 때 전류적용시간(적용전류량) 증가에 따라 정확히 정비례하여 증가하지는 않지만 직선적으로 투과량이 증가함을 알 수 있으며 이 결과는 적용 전류량이 피부투과에 있어 중요한 인자임을 알려준다.

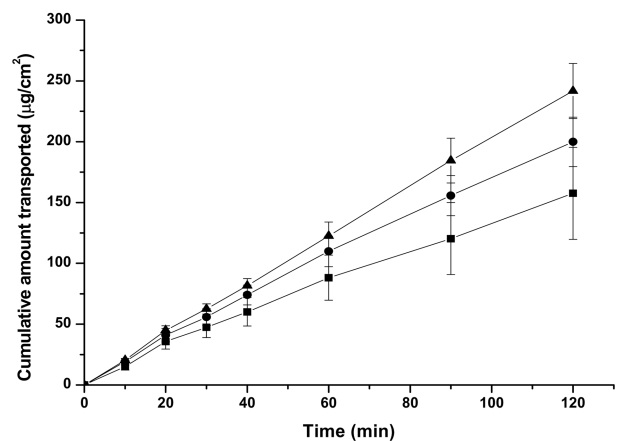
**외부이온농도의 영향**

약물농도와 전류세기를 고정하고 receptor phase buffer의 NaCl양을 67, 133 및 266 mM로 조절하여 flux에 어떤 영향을 미치는지 조사하였다. VCP와 경쟁상대인 음전하인 외부이온의 농도가 증가할수록 투과도는 감소하는 것을 알 수 있었다 (Figure 10). NaCl 농도가 67 mM 일 때 누적투과량

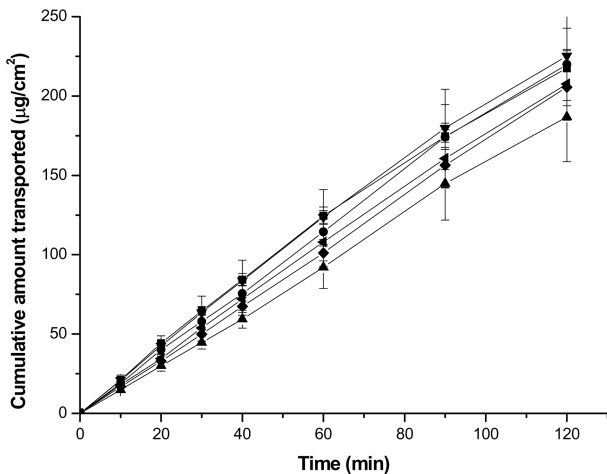
은 277 µg/cm<sup>2</sup>hr으로 133 mM 일 때에 비해 60 µg/cm<sup>2</sup>hr (1.3배)의 증가를 나타내었고 266 mM 일 때는 181 µg/cm<sup>2</sup>hr로 36 µg/cm<sup>2</sup>hr의 누적투과량 감소를 나타내었다. 이 결과는 피부투과에 있어 외부이온농도가 VCP와 경쟁적으로 작용하기 때문에 투과도의 감소가 일어나는 것을 알려주며 제형의 설계 시 전해질의 양을 최소화 하는 것이 중요하다는 것을 알려준다.

**pH의 영향**

약물농도와 전류세기를 고정하고 receptor cell을 pH 7.4인



**Figure 11**—The effect of pH on iontophoretic flux from Carbopol hydrogel across hairless mouse skin *in vitro*. Drug concentration in the hydrogel was 5% (w/v). Direct current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 2 hours in the presence of 133 mM of NaCl. Data represents mean±S.D. (n=6). Key; ■ : pH 3.0, ● : pH 5.0, ▲ : pH 7.4.



**Figure 12**—The effect of the penetration enhancers on the iontophoretic flux from Carbopol hydrogel across hairless mouse skin *in vitro*. Drug concentration in the hydrogel was 5% (w/v). Direct current of 0.4 mA/cm<sup>2</sup> was applied for 2 hours in the presence of 133 mM of NaCl. The difference between flux from hydrogel with enhancer and without enhancer was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). Data represents mean  $\pm$  S.D. (n = 6). Key; ■ : no enhancer, ● : ethanol, ▲ : glycerine, ▼ : propylene glycol, ◆ : sorbitol, ◄ : urea.

0.1 M 인산 buffer로 채우고 donor 쪽은 pH 3.0, 5.0 또는 7.4의 인산 buffer(0.1 M)을 이용하여 제조한 Carbopol 하이드로겔을 부착하여 약물의 해리 정도에 따라 flux에 어떤 영향을 나타내는지 알아보려고 하였다. 실험결과 pH가 낮아질수록 flux는 감소하는 것을 볼 수 있었다 (Figure 11). 이는 생리적 pH(pH 7.4)에서 VCP가 음이온을 띄는 약물로 pH가 점점 낮아지면 음이온의 분율이 점차 낮아지고 따라서 전기적 반발에 의한 flux가 감소하는 것으로 판단된다.

#### 피부투과증진제의 영향

약물농도, 이온강도 및 전류세기를 고정하고 피부투과촉진제(ethanol, glycerine, propylene glycol, sorbitol, urea)를 하이드로겔에 0.5%의 비율로 함유시켜 피부투과촉진제를 함유시키지 않은 경우와 비교한 결과 유의적 차이를 보이지는 않았다 ( $P > 0.05$ ) (Figure 12). 비슷한 결과가 케토프로펜의 이온토포레시스 전달 시에 관찰되었는데 수용성 투과증진제로 5% (w/v)의 urea, N-methyl pyrrolidone 및 Tween 20을 사용하였을 때 투과도가 투과증진제를 적용하지 않은 경우와 비슷한 크기로 나타났다.<sup>32)</sup> 이 결과는 이온토포레시스를 이용한 VCP의 피부투과에 있어 정전기적 반발 효과가 수용성 피부투과촉진제의 영향에 비해 지배적인 작용을 하고 있음을 나타내며 따라서 제형 제조 시 수용성 피부투과증진제의 사용은 불필요함을 알려주고 있다.

## 결론

본 연구에서는 이온토포레시스 및 Carbopol 하이드로겔을 이용하여 vitamine C-2-phosphate(VCP)를 피부 내로 전달하는데 고려해야 할 여러 조건 즉 전극의 극성, 전류세기, 약물의 농도, 전류적용시간, 이온강도, pH, 피부투과증진제의 영향을 살펴보았다. 음극전달(cathodal), 양극전달(anodal) 및 수동수송(passive)을 측정된 결과 음극전달에 의해 현저한 투과도의 증가를 나타내었으며 약물농도, 전류세기 및 적용된 전류량이 커질수록 또 이온강도가 작을수록 flux는 증가하였으나 수용성피부투과증진제의 효과는 미미하였다. 이상의 결과는 VCP 이온토포레시스 제형의 개발 시 최적의 투과도를 나타낼 수 있는 이온토포레시스 조건의 설정에 유용한 정보를 제공하고 있다.

## 감사의 말씀

이 연구는 보건의료기술연구개발사업(02-PJ1-PG4-PT05-0005) 및 약학연구소 특별연구비(2005년)로 수행되었습니다.

## 참고문헌

- 1) J. Uitto, M. J. Fazio and D. R. Olsen, Molecular mechanism of cutaneous aging, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **21**, 614-622 (1989).
- 2) D. Darr, S. Combs, S. Dunston, T. Manning and S. Pinnell, Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation-induced damage, *Br. J. Dermatol.*, **53**, 127-247 (1992).
- 3) A. D. Harper, G. J. Handelman, J. M. Harris, C. A. Belmont and J. B. Blumberg, Protection by vitamin C of loss of vitamin E in cultured rat hepatocytes, *Arch. Biochem. Biophys.*, **359**, 305-309 (1998).
- 4) B. V. Nusgens, P. Humbert, A. Rougier, A. C. Colige, M. Haftek, C. A. Lambert, A. Richard, P. Creidi and C. M. Lapiere, Topically applied vitamin C enhances the mRNA level of collagen I and III their processing enzymes and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 in the human dermis, *J. Invest. Dermatol.*, **116**(6), 853-859 (2001).
- 5) K. Kameyama, C. Sakai, S. Kondoh, K. Yonemoto, S. Nishiyama, M. Tagawa, T. Murata, T. Ohnuma, J. Quigley, A. Dorsky, D. Bucks and K. Blanock, Inhibitory effect of magnesium L-ascorbyl-2-phosphate (VC-PMG) on melanogenesis *in vitro* and *in vivo*, *J. Am. acad. Dermatol.*, **34**(1), 29-33 (1996).
- 6) H. I. Roach, K. Hillier and J. R. Shearer, Stability of ascorbic acid and uptake of the vitamin by embryonic chick femurs during long-term culture, *Biochim. Biophys. Acta*,

- 842, 133-138 (1985).
- 7) R. Austria, A. Semenzato and A. Bettero, Stability of vitamin c derivatives in solution and topical formulations, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **15**, 795-801 (1997).
  - 8) S. Nayama, M. Takehana, M. Kanke, S. Itoh, E. Ogata and S. Kobayashi, Protective effects of sodium-L-ascorbyl-2 phosphate on the development of UVB-induced damage in cultured mouse skin, *Biol. pharm. bul.*, **22**(12), 1301-1305 (1999).
  - 9) S. Kobayashi, M. Takehana, S. Itoh and E. Ogata, Effect of magnesium-L-ascorbyl-2-phosphate on cutaneous damage induced by UVB irradiation, *Photomed. Photobiol.*, **17**, 39-40 (1995).
  - 10) D. C. Mahan, A. J. Lepine and K. Dabrowski, Efficacy of magnesium-L-ascorbyl-2-phosphate as a vitamin C source for weanling and growing-finishing swine, *J. Animal Science*, **72**(9), 2354-2356 (1994).
  - 11) T. Ueda, R. Soeda, H. Suzuki and K. Akao, Noninvasive detection of L-ascorbyl-2-phosphate transported into skin by iontophoresis, *J. Fragrance*, **31**(8), 120-125 (2003).
  - 12) A. R. Elmore, Final report of the safety assessment of L-Ascorbic Acid, Calcium Ascorbate, Magnesium Ascorbate, Magnesium Ascorbyl Phosphate, Sodium Ascorbate, and Sodium Ascorbyl Phosphate as used in cosmetics, *Int. J. Toxicol.*, **24**(Suppl 2), 51-111 (2005).
  - 13) D. Ross, S. Mendiratta, Z. C. Qu, C. E. Cobb and J. M. May, Ascorbate 6-palmitate protects human erythrocytes from oxidative damage, *Free Rad. Biol. Med.*, **26**, 81-89 (1999).
  - 14) R. Panchagnula, O. Pillai, V. B. Nair and P. Ramarao, Transdermal iontophoresis revisited, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **4**(4), 468-473 (2000).
  - 15) Y. Wang, R. Thakur, Q Fan and B. Michniak, Transdermal iontophoresis: combination strategies to improve transdermal iontophoretic drug delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **60**, 179-191 (2005).
  - 16) V. Nair, O. Pillai, R. Poduri and R. Panchagnula, Transdermal iontophoresis. Part 1: basic principles and considerations, *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, **21**(2), 139-151 (1999).
  - 17) N. Kanikkannan, Iontophoresis-based transdermal delivery systems, *BioDrugs*, **16**(5), 339-347 (2002).
  - 18) G. M. Khan and Z. Jaibai, Formulation and in vitro evaluation of Ibuprofen-Carbopol 974P-NF controlled release matrix tablets III influence of co-exipients on release rate of drug, *J. Contr. Rel.*, **54**, 185-190 (1998).
  - 19) M. K. Chun, B. T. Kwak and H. K. Choi, Preparation of buccal patch composed of carbopol, poloxamer and hydroxypropyl methylcellulose, *Archiv. Pharmacol Research*, **26**(11), 973-978 (2003).
  - 20) S. Proniuk and J. Blanchard, Anhydrous Carbopol polymer gels for the topical delivery of oxygen/water sensitive compounds, *Pharm. Develop. Tech.*, **7**(2), 249-255 (2002).
  - 21) A. Semenzato, R. Austria, C. Dall'Aglio and A. Bettero, High-performance liquid chromatographic determination of ionic compounds in cosmetic emulsions: application to magnesium ascorbyl phosphate, *J. chrom. A.*, **705**(2), 385-389 (1995).
  - 22) M. J. Pikal and S. Shah, Transport mechanisms in iontophoresis. I. A theoretical model for the effect of electroosmotic flow on flux enhancement in transdermal iontophoresis, *Pharm Res.*, **7**, 118-126 (1990).
  - 23) M. J. Pikal and 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).
  - 24) R. H. Guy, Y. N. Kalia, M. B. Delgado-Charro, V. Merino, A. Lopez and D. Marro, Iontophoresis: Electropulsion and electroosmosis, *J. Contr. Rel.*, **64**, 129-132 (2000).
  - 25) J. H. Lee and S. Y. Oh, Current pretreatment of skin and its effect on the permeability, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **35**(2), 81-87 (2005).
  - 26) S. Y. Oh, Transdermal delivery of ketoprofen and the effect of electroosmosis, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **34**(6), 491-497 (2004).
  - 27) C. Cullander and R. H. Guy, Sites of iontophoretic current flow into the skin: Identification and characterization with the vibrating probe electrode, *J. Invest. Dermatol.*, **97**, 55-64 (1991).
  - 28) R. R. Burnette and B. Ongpipattanakul, Characterization of the pore transport properties and tissue alteration of excised human skin during iontophoresis, *J. Pharm. Sci.*, **76**, 765-773 (1987).
  - 29) J. Hirvonen and R. H. Guy, Iontophoretic delivery across the skin: electroosmosis and its modulation by drug substances, *Pharm. Res.*, **14**(9), 1258-1263 (1997).
  - 30) M. B. Delgado-Charro, A. M. Rodriguez-Bayon and R. H. Guy, Iontophoresis of nafarelin: effects of current density and concentration on electrotransport in vitro, *J. Control. Rel.*, **35**, 35-40 (1995).
  - 31) A. Luzardo-Alvarez, M. B. Delgado-Charro and J. Blanco-Mendez, Iontophoretic delivery of ropinirole hydrochloride: effect of current density and vehicle formulation, *Pharm. Res.*, **18**, 1714-1720 (2001).
  - 32) J. A. Kim and S. Y. Oh, Iontophoretic transport of leto-profen, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **34**(4), 275-281 (2004).