

국소 피부 투여를 위한 이트라코나졸 제제의 조성

이은아* · 허성근** · 최명준*** · 정석재* · 심창구* · 김대덕*†
* 서울대학교 약학대학, ** 부산대학교 약학대학, *** 참존 생물소재연구소
(2007년 5월 31일 접수 · 2007년 6월 8일 승인)

Formulations of Itraconazole for Topical Skin Delivery

Eun-A Lee*, Sung-Koun Heo**, Myeong Jun Choi***, Suk-Jae Chung*, Chang-Koo Shim* and Dae-Duk Kim*†

*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

**College of Pharmacy, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

***Charmzone Research & Development Center, Biomaterials Research Institute, Wonju 220-962, Korea

(Received May 31, 2007 · Accepted June 8, 2007)

ABSTRACT – Itraconazole is one of the most potent antifungal agents available in the market today. However, the low bio-availability due to its poor-water solubility calls for an alternative formulation to the current oral type. A topical itraconazole-containing formulation may be of use for several reasons including the opportunity to reduce adverse events and generate high local tissue levels, more rapid drug delivery, and lower systemic exposure. The purpose of the present study was to investigate the vehicles for topical skin delivery of itraconazole. The effect of formulations on the hairless mouse skin permeation and deposition of itraconazole was determined using Franz diffusion cells at 37°C. Benzyl alcohol in microemulsion significantly increased the solubility of itraconazole, thereby increasing the skin permeation rate. However, liposome formulation showed the lowest solubility and permeation rate of itraconazole. Although the solubility of itraconazole in hydrogel formulation was lower than that in microemulsion, skin permeation rate was significantly higher probably due to its adhesive property. Therefore, microemulsion-based hydrogel formulation is expected to synergistically increase the skin permeation rate and skin deposition of itraconazole.

Key words – Benzyl alcohol, Itraconazole, Topical skin delivery

이트라코나졸(Itraconazole)은 triazole 계의 광범위 항진균제로 칸디다증, 조감진균증, 피부사상균증 등의 치료에 사용된다.^{1,5)} 이트라코나졸은 매우 난용성 약물로서 임상에서는 주로 경구제로 사용되고 사용량은 전신, 표재성 감염의 경우에 100~600 mg/day을 3~6개월간 복용한다.⁶⁾ 경구투여할 경우, 이트라코나졸과 같은 매우 난용성 약물(poorly water-soluble drugs)의 생체이용률은 소장관의 생리적 환경 (physicochemical condition), 소장관 내의 음식물과의 결합에 의해 영향을 받을 수 있고⁷⁻⁹⁾ 간독성, 구역, 설사, 복통, 소화불량, 두통 등의 부작용이 있는 것으로 알려져 있다.⁷⁾ 간에서 CYP3A4 에 의해 주로 대사되며 따라서 임상적으로 중요한 많은 약물(ex, H₂ receptor antagonists, oral contraceptives, astemizole, rifampin 등)의 대사에 영향을 미칠 수 있다.^{10,11)}

칸디다증, 조감진균증 치료의 목적으로 투여되는 이트라코나졸 경구제는 목적부위인 피부, 손발톱에서의 유효 약물

농도를 유지하기 위해서 장기간 복용하여야 하며, 또한 생체 이용률을 높이기 위하여 음식과 함께 복용해야 하는 불편함이 있다. 따라서, 이런 단점을 극복하고 목적인 부위로 유효량의 약물을 신속하게 전달 가능한 국소 피부 적용 제제 개발의 필요성이 제기되고 있다. 피부 국소에 적용할 경우, 이트라코나졸의 지용성(lipophilic drug)과 피부 케라틴 조직과의 높은 친화성(a high affinity for keratinizing tissues)으로 인하여 피부나 손발톱으로의 이행이 높고 장시간 머물면서 약효가 용이하게 발현될 것으로 기대된다. 따라서, 본 연구에서는 이트라코나졸의 국소적용 제제 개발을 위해 다양한 제제를 제조하고 이에 따른 약물의 피부 분포의 변화를 평가하고자 하였다.

실험 방법

시약

실험에 사용한 이트라코나졸은 종근당(주)에서 공급받았다. 다음의 시약들은 구입한 후 더 이상 정제하지 않고 사용하였다. 벤질알코올, 이소프로필미리스테이트(isopropyl myristate,

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)880-7870, E-mail : ddkim@snu.ac.kr

IPM), 에탄올, PEG400, 올레인산(oleic acid), cholesterol, carbamide, 디에틸렌글리콜모노에틸에텔(Transcutol[®]), chloroform은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Carbopol 980은 Noveon사(Noveon Inc, USA)에서 구입하였다. Soybean phosphatidylcholine(S₇₅PC)는 Lipoid Company(Ludwigshafen, Germany)에서 제공받았다. PEG-8 Caprylic/Capric Glycerides(Labrasol[®])은 Gattefosse(France)에서 공급받았다. HPLC용 methanol과 acetonitrile은 Merck(Darmstadt, FRG)에서 구입한 후 0.2 μm 필터로 여과하고 사용하였다.

이트라코나졸의 용해도 측정

이트라코나졸을 가장 잘 녹일 수 있는 기체를 찾기 위해 다양한 용매(benzyl alcohol, tetraglycol, tocopherol, castor oil)에서의 용해도를 측정하였다. 액상의 기체 약 1 mL에 과량의 이트라코나졸을 넣고 37±0.5°C에서 200 rpm으로 흔들며 주면서 (Shaking incubator, SI 600R, JEIO TECH, Korea) 72시간 동안 교반하였다. 이를 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하고 위의 액을 멤브레인 필터(0.2 μm)를 사용하여 여과한 후, 메탄올로 적당히 희석하여 HPLC로 분석하였다.

실험에서 제조한 제제에 함유된 이트라코나졸의 함량을 측정하기 위해, 각 제제일정량을 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리한 후, 동일량의 메탄올을 첨가하여 균일하게 혼합되도록 vortex한 후 메탄올로 적당히 희석하여 HPLC로 분석하여 정량하였다.

이트라코나졸을 함유한 다양한 제제의 제조

이트라코나졸을 국소피부에 적용하기 위한 제제로는 마이 크로에멀전, 리포솜, 및 하이드로겔을 선택하였으며, 그 조성

Table 1—Compositions (% w/w) of itraconazole (0.4%, w/w) formulation for topical delivery

Rx component	microemulsion			liposome	hydrogel
	A	B	C	D	E
benzyl alcohol	25	18	18	-	20
isopropyl myristate	-	6	6	-	-
ethanol	10	11	11	-	-
S ₇₅ PC	6	4.5	4.5	7	-
Labrasol	30	44.5	44.5	-	-
oleic acid	-	-	1	-	-
PEG400	-	-	-	-	26
cholesterol	-	-	-	0.4	-
carbamide	-	-	-	-	3.5
Carbopol 980	-	-	-	-	0.5
Tween 80	-	-	-	2.7	-
water	28.6	15.6	14.6	89.5	49.6

은 Table 1와 같았다. 이트라코나졸의 농도는 모든 제제에서 0.4%(w/w)을 함유하도록 통일하였다.

Microemulsion의 제조

용해도 실험결과로부터 (Table 2), oil 상은 benzyl alcohol로 선정하였으며, surfactant(Labrasol)와 cosurfactant (S₇₅ PC, 에탄올)를 44.5:15.5 혹은 30:16의 비율로 혼합한 계면 활성제와 물의 세 가지 조성을 변화시킨 phase diagram으로부터 microemulsion이 형성되는 두 가지 조성(A와 B)을 선정하였다. Isopropyl myristate가 함유된 조성 B에 흡수촉진제로서 oleic acid를 함유한 조성을 C로 하였다. 이트라코나졸을 benzyl alcohol에 미리 녹여서 oil phase를 형성하였으며, 이곳에 surfactant mixture를 가하고 교반하면서 물을 적하하여 o/w microemulsion을 제조하였다.

Liposome의 제조

S₇₅ PC가 7% (w/w) 함유된 liposome조성에 이트라코나졸 0.4% (w/w)을 봉입하였다. S₇₅ PC와 cholesterol을 9:1의 molar ratio로 취하여 chloroform에 녹이고, 이 용액에 이트라코나졸을 넣고 균일하게 혼합되도록 vortex한 후 rotary evaporator로 감압 증류하여 chloroform을 제거하였다. 여기에 2.7% tween 80 (w/w)을 함유한 인산완충액 (PBS, pH 7.4)을 가하여 완전히 녹인 후 초음파를 가해 균일한 liposome suspension을 형성하였다. 이 용액을 extruder (pore size 0.2 μm)를 통과시켜 균일한 크기의 liposome(조성D)을 제조하였다.

Hydrogel의 제조

증류수에 Carbopol 980 (0.5%, w/w)과 PEG 400 및 carbamide을 넣고 교반하여 완전히 녹인 후, 이트라코나졸을 녹인 benzyl alcohol을 가하였다. Magnetic stirrer를 이용하여 교반하면서 triethanolamine을 몇 방울 가하여 pH 7.3~8.3으로 유지하여 hydrogel(조성E)을 제조하였다.

Table 2—Solubility of itraconazole in various solvents at 37±0.5°C (n = 3)

oil	Solubility (mg/mL)	J.Y Hong et al ¹³ (mg/mL)
Benzyl alcohol	159.17±2.50	187.59±7.69
Castor oil	0.64±0.001	1.32±0.43
Tetraglycol	12.92±0.50	9.28±0.32
Tocopherol	0.30±0.002	4.97±0.83
Corn oil	-	0.15±0.06
Labrafac hydrophile	-	0.92±0.05
Labrafil M 1944 CS	-	0.34±0.00

Table 3—Permeation parameters of itraconazole from formulations through hairless mouse skin

Formulation	Solubility (mg/mL)	Flux ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	Q_s^a ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Skin deposition after 12 h ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
A	3.36	0.060 (± 0.026)	0.946 (± 0.201)	0.977 (± 0.632)
B	3.03	0.078 (± 0.010)	1.195 (± 0.100)	2.097 (± 1.402)
C	3.38	0.051 (± 0.008)	0.953 (± 0.039)	1.257 (± 0.530)
D	0.25	0.035 (± 0.019)	0.413 (± 0.103)	1.589 (± 0.503)
E	1.15	0.129 (± 0.008)	1.193 (± 0.113)	0.805 (± 0.075)

^a cumulative amount of itraconazole permeated for 12 h

이트라코나졸의 피부 투과도 및 잔류량 측정

Hairless mouse(18~20 g, male) 피부를 통한 이트라코나졸의 투과속도는 Franz diffusion cell을 사용하여 측정하였다. Hairless mouse는 경추탈골로 치사시켰으며 대략 3 cm × 3 cm면적으로 피부를 등 부위에서 적출한 후 피하지방과 조직들을 피부가 상하지 않도록 조심스럽게 제거하였다. 각 질 부분이 donor phase로 향하도록 donor와 receptor phase 사이에 피부를 고정시켰다. Receptor phase와 접촉하는 피부의 면적은 2.0 cm²이었다. Receptor phase로는 benzyl alcohol:PBS:PEG400=3:8:4 (v/v/v)혼합액 (12 mL)을 사용하였으며 37±0.5°C로 유지하면서 600 rpm으로 계속 일정하게 교반하였다. 각 검액 500 μL 를 donor phase의 피부표면에 가한 후, 일정시간 간격으로 12시간 동안 1.0 mL의 receptor phase를 채취하였고 즉시 동량의 신선한 media로 보충하였다.

피부투과 실험에서 12시간째의 시료를 채취한 직후, 피부 표면에 남아있는 제제를 methanol로 씻어내어 제거하였다. Cellophane adhesive tape(CuDerm corporation, Dallas, USA) 를 각질층에 20회 반복하여 붙였다 떼어내어 각질층

을 제거하였다.¹²⁾ 제제와 접촉하였던 피부 면적 2.0 cm²을 취하여 methanol 2 mL을 첨가하고 homogenizing 한 후 filter(0.22 μm)하여 진피층에 남아있는 이트라코나졸의 양을 HPLC로 정량하였다.

이트라코나졸의 정량

이트라코나졸의 농도는 문헌에 나온 방법을 약간 변형하여 HPLC를 사용하여 정량하였다.¹³⁾ 칼럼은 Capcell pak C₁₈(4.6×250 mm, Shiseido)을 사용하였으며, 이동상은 triethylamine 0.05%를 함유하는 water와 acetonitrile의 30:70 (v/v) 혼합액 (pH 7)을 사용하였으며 유속 1.0 mL/min로 흘렸다. 형광검출기의 파장은 excitation 260 nm, emission 365 nm로 하였고 시료의 주입량은 60 μL 로 하였다.

결과 및 고찰

피부투과도 평가

이트라코나졸을 함유하는 다양한 제제의 조성을 Table 1에 나타내었다. 이트라코나졸의 피부투과에 대한 각 제제들의 영향을 보고자 각 제제로부터의 피부투과도를 측정하였다. 이트라코나졸을 함유한 각 조성에서 시간에 따른 약물의 피부투과 양을 구하고 이로부터 얻은 이트라코나졸의 피부투과 양상을 Figure 1에서 나타내었다. 또한 이 피부투과 양상으로부터 구한 이트라코나졸의 피부투과도를 Table 3에 나타내었다.

이트라코나졸을 0.4% (w/w) 가한 각 제제 중에 실제로 녹아있는 약물의 양을 측정한 결과, microemulsion에서의 용해도가 가장 높았으며 liposome에서 용해도가 가장 낮게 나타났다 (Table 3). 이는, 이트라코나졸에 대한 용해도가 가장 높은 benzyl alcohol을 microemulsion의 오일상으로 사용했기 때문인 것으로 생각된다 (Table 2). Microemulsion제제는 국소 적용 시 다른 약물 전달체에 비하여 수용성, 지용성 약물의 피부 전달능이 강력한 이상적인 제제로 평가되어지고 있으며 다양한 약물의 국소 피부 전달체로 연구되고 있다.¹⁴⁾

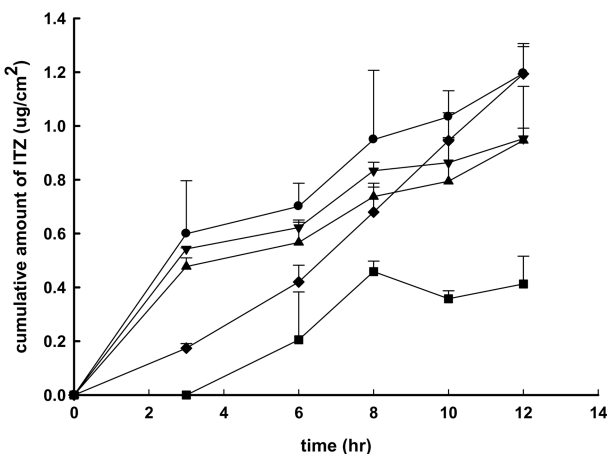


Figure 1—Permeation profiles of Itraconazole through hairless mouse skin from the topical formulations (mean±S.D., n=3). A(▲), B(●), C(▼), D(■), E(◆)

이는 microemulsion내의 높은 약물 용해도로 인한 피부로의 thermodynamic activity 증가 때문인 것으로 알려져 있다.

Table 3에서 나타난 바와 같이 두 가지 microemulsion 조성, A와 B 사이에는 이트라코나졸의 용해도, 피부투과속도, 및 피부잔류량의 유의성있는 차이는 없었다. 또한, 피부흡수 촉진제로 많이 이용되고 있는 oleic acid¹⁵⁾를 조성 B에 첨가한 조성 C의 경우에도 유의성 있는 증가를 보이지 않았다.

Liposome 제제는 수용성 및 지용성 약물의 봉입이 모두 가능하고, 국소 피부에 적용하여 피부내의 축적을 증가시킬 수 있을 뿐만 아니라 장시간 방출이 가능하기 때문에 다양한 약물의 국소 투여 제제로 연구되어 왔다. 그러나, 약물의 봉입률이 낮다는 것이 문제점인 것으로 알려져 있다.¹⁶⁾ 이트라코나졸의 경우도, liposome제제인 조성 D의 용해도가 가장 낮았으며 이로 인해 피부투과도는 microemulsion제제에 비해 절반 수준이었다. Liposome suspension 형성시 이트라코나졸의 용해도를 증가시키고 또한 피부투과력의 향상을 위해 tween 80을 2.7% (w/w)을 첨가하였으나 hydrogel 조성인 E 보다도 피부투과도가 낮았다. Hydrogel 조성의 경우, 이트라코나졸의 용해도는 microemulsion 제제의 절반 이하로 낮았지만, 가장 높은 피부투과도를 보였는데, 이는 제제의 높은 점착력으로 인하여 약물의 피부로의 분배가 증가하였기 때문인 것으로 생각되어지며 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

피부내 누적량 평가

피부에 적용한 이트라코나졸의 작용 부위는 피부의 진피층이므로, 12시간의 피부투과실험이 끝난 후 각질층을 제거하고 진피층에 남아있는 이트라코나졸의 양을 측정하였다 (Table 3).

이트라코나졸을 함유한 제제 사이에 피부 누적량의 유의성 있는 차이는 없었는데, 이트라코나졸의 용해도 및 피부투과도가 가장 낮은 리포솜 제제(조성 D)에서도 피부 누적량의 차이가 없다는 것은 흥미로운 사실이다. Figure 2은 이트라코나졸의 피부투과속도와 피부 누적량과의 상관관계를 그린 것이다. 액상에 가까운 microemulsion 제제(조성 A, B, C)의 경우는 피부투과속도가 증가할수록 피부 누적량도 증가하는 경향을 보였다. 그러나, 리포솜 제제(조성 D)의 경우는 피부투과도는 제일 낮았지만, 피부누적량은 microemulsion과 유의성있는 차이가 없었다. 이에 반해, hydrogel 제제(조성 E)는 높은 피부투과율에도 불구하고 피부 누적량은 다른 제제 보다도 제일 낮은 값을 보였다. 이는, 12시간의 피부투과실험을 하는 동안 진피내의 약물 농도가 정상상태에 도달하였기 때문인 것으로 생각되어진다.

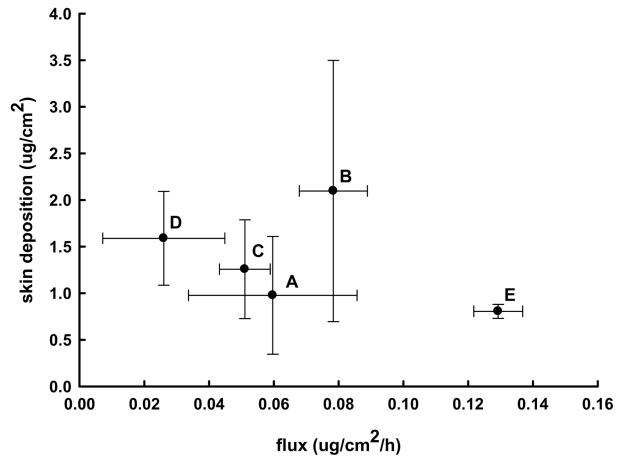


Figure 2—Correlation between the flux and skin deposition of itraconazole from the topical formulations (mean±S.D., n=3).

제제의 조성에 사용된 phosphatidyl choline은 피부의 구성물질로서 이를 함유한 조성의 경우 이트라코나졸의 피부 분배가 용이하게 되어 리포솜(조성 D)과 같이 약물의 용해도가 낮은 조성에서도 microemulsion과 비슷한 피부 누적량을 보인 것으로 생각된다. 그러나, hydrogel(조성 E) 제제는 benzyl alcohol과 PEG400을 첨가하여 리포솜보다 높은 용해도와 microemulsion제제 보다 높은 피부투과속도를 나타내지만, 피부내 누적량은 가장 낮았다. 따라서, 피부내 이트라코나졸의 누적량을 증가시키기 위해서는 microemulsion과 같이 용해도를 높이는 제제와 피부투과도를 높이는 hydrogel 제제를 복합하여 상승효과를 기대할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 이러한 제형에 대해, 시간에 따른 피부 누적량의 변화를 체계적으로 연구할 필요가 있을 것으로 생각된다.

결 론

이트라코나졸의 국소적용 제제의 개발 가능성을 연구하기 위하여 이를 함유한 다양한 조성의 제제를 제조한 후, 피부투과도와 피부내 누적량을 관찰하였다. 벤질 알코올을 사용하여 난용성 약물인 이트라코나졸의 용해도를 높일 수 있었으며 microemulsion과 hydrogel 제제의 경우, 피부내 누적량을 높일 수 있을 것으로 기대되어 이에 관한 체계적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 과학재단의 특정기초연구(R01-2006-000-11230-0)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) J. Q. Del Rosso and A. K. Gupta. The spectrum of utility of oral antifungal agents: from the Petri dish to the patient. *Today's Therapeutic Trends*, **15**, 179-189 (1997).
- 2) J. Q. Del Rosso, S. Zellis, and A. K. Gupta. Itraconazole in the treatment of superficial cutaneous and mucosal *Candida* infections. *J. Am. Osteopath Assoc.*, **98**, 497-502 (1998).
- 3) J. G. Hickman. A double-blind, randomized, placebo-controlled evaluation of short-term treatment with oral itraconazole in patients with tinea versicolor. *J. Am. Acad. Dermatol.*, **34**, 785-787 (1996).
- 4) J. Delescluse. Itraconazole in tinea versicolor: a review. *J. Am. Acad. Dermatol.*, **23**, 551-554 (1990).
- 5) J. Q. Del Rosso, A. K. Gupta. The use of intermittent itraconazole therapy for superficial mycotic infections: a review and update on the "one week" approach. *Int. J. Dermatol.*, **38**, 28-39 (1999).
- 6) R. Alcantara and J. M. Garibay. Itraconazole therapy in dermatomycoses and vaginal candidiasis: effects and adverse effects profile in a large multi-center study. *Adv. Ther.*, **5**, 326-334 (1988).
- 7) G. Dongowski, B. Fritsch, J. Giessler, A. Ha'rtl, O. Kuhlmann, and R. H. H. Neubert. The influence of bile salts and mixed micelles on the pharmacokinetics of quinine in rabbits. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **60**, 147- 151 (2005).
- 8) T. Maeda, H. Takenaka, Y. Yamahira, and T. Noguchi, Use of rabbits for GI drug absorption studies: relationship between dissolution rate and bioavailability of griseofulvin tablets, *J. Pharm. Sci.* **68**, 1286-1289 (1979).
- 9) Y. Chiba, N. Kohri, K. Iseki, and K. Miyazaki, Improvement of dissolution and bioavailability for meben-dazole, an agent for human echinococcosis, by preparing solid dispersion with polyethylene glycol, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 2158-2160 (1991).
- 10) R. L. Slaughter and D. J. Edwards. Recent advances: the cytochrome P450 enzymes. *Ann. Pharmacother.*, **29**, 619-624 (1995).
- 11) M. Spatzenegger, and W. Jaeger, Clinical importance of cytochrome p. 450 in drug metabolism. *Drug Metab. Rev.*, **27**, 397-417 (1995).
- 12) H. M. Heise, L. Kupper, and L. N. Butvina, Mid-infrared attenuated total reflection spectroscopy of human stratum corneum using a silver halide fiber probe of square cross-section and adhesive tape stripping. *J. Mol. Struct.*, **661**, 281-289 (2003).
- 13) J. Y Hong, J. K Kim, Y. K Song, J. S Park, and C. K Kim, A new self-emulsifying formulation of itraconazole with improved dissolution and oral absorption. *J. Control. Release*, **110**, 332-338 (2006).
- 14) M. Kreilgaard, Influence of microemulsion on cutaneous drug delivery, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **54**, S77-S98 (2002).
- 15) A. Kogan, N. Garti, Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **123**, 369-385 (2006).
- 16) Z. Paveli'c, N. Skalko-Basnet, I. Jal'senjak, Characterisation and in vitro evaluation of bioadhesive liposome gels for local therapy of vaginitis, *Int. J. Pharm.*, **301**, 140-148 (2005).