

수중 용제와 투과 촉진제를 이용한 로바스타틴의 용해성 및 피부 투과 증진

이나영 · 전인구[#]

동덕여자대학교 약학대학

(Received April 25, 2014; Revised May 13, 2014; Accepted May 20, 2014)

Enhanced Solubility and *In vitro* Skin Permeation of Lovastatin Using Some Vehicles and Penetration Enhancers

Na Young Lee and In Koo Chun[#]

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

Abstract — To enhance the *in vitro* permeation of lovastatin through excised hairless mouse and human cadaver skins, solubility was determined in various hydrophilic and lipophilic vehicles, and the effects of vehicles and penetration enhancers on the skin permeation from solution formulations were investigated. Solubility of lovastatin was highest in N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) (278.2±10.1 mg/ml) and dimethyl sulfoxide (DMSO) (162.2±9.7 mg/ml). Among different pure vehicles used, NMP, DMSO, propylene glycol and isopropyl myristate provided some drug permeation (6.9±1.1, 5.9±1.6, 3.0±0.5 and 2.2±0.3 µg/cm² at 24 hr, respectively) through hairless mouse skin. The addition of oleic acid, linoleic acid and oleyl alcohol to DMSO showed the maximum permeation at around 5 v/v%, however, capric acid and caprylic acid had no enhancing effect. The increase of enhancer concentrations showed bell-shaped permeation rate, suggesting the presence of optimal concentration in lovastatin penetration. Increasing donor concentration from 10 mg/ml to 80 mg/ml in DMSO and a cosolvent of DMSO, NMP and DGME (3 : 3 : 4 v/v) did not show significant dose dependent permeation in both hairless mouse and human cadaver skins. The maximum lovastatin flux through human cadaver skin was found to be 0.87±0.46 µg/cm²/hr with 5 v/v% linoleic acid and donor dose of 4 mg/0.64 cm² in the cosolvent. These results suggest that transdermal delivery of lovastatin would be feasible by establishing the optimal concentrations of donor dose and unsaturated fatty acids in appropriate vehicles.

Keywords □ lovastatin, solubility, skin permeation, vehicles, enhancers

로바스타틴은 천연에서 *Aspergillus terreus* 계통의 곰팡이류로부터 주로 생산되는 스타틴계 약물로서 1987년 미국식품의약국으로부터 Mevacor[®]라는 상품명으로 최초 승인을 받은 약물이다.^{1,2)} 이 약물은 체내에서 에스테라제에 의해 그 락톤 환이 개열되어 활성형의 개환된 산으로 전환되는 프로드럭이다. 로바스타틴은 콜레스테롤 합성의 속도조절 단계인 메발로네이트로의 전환에 작용하는 3-히드록시-3-메틸글루타릴-코엔자임 A 환원효소를 특이적, 가역적 및 상경적으로 강력하게 억제함으로써, 간에서의 콜레스테롤 합성을 감소시키고 저밀도 지질단백질(LDL) 수용체 합성 증가를 유도하며 LDL의 제거를 증가시키고 혈장 LDL 콜

레스테롤 농도를 감소시킨다.^{3,4)} 또한 스타틴계 약물은 고지혈증 환자의 뼈 손실 방지,⁵⁾ 급성 골수성 백혈병⁶⁾ 등 장기의 암세포를 감소시키는 효과를 나타낸다고 알려졌다.^{7,8)} 그러나 스타틴계 약물은 근육병증 및 횡문근 용해와 같은 이상반응이 보고되었으나⁹⁾ 로바스타틴의 경우 그 위험도가 낮아 미국 내에서 20 mg 로바스타틴은 처방전 없이 투여할 수 있다.¹⁰⁾

대부분의 스타틴계 약물들은 간에서 시토크롬 P450(CYP)의 대사를 받는다. 로바스타틴, 아토르바스타틴 및 심바스타틴은 CYP 3A4에 의해, 플루바스타틴은 CYP 2C9에 의해서 대사된다.³⁾ 또한 로바스타틴은 장에서 P-당단백질에 의해 장으로 송출되므로 이러한 수송을 억제하는 사이클로스포린 A, 케토코나졸 또는 베라파밀 등의 약물을 함께 투여하면 혈중 농도가 높아지고, 페니토인, 리팜피신 또는 카르바마제핀과 같은 CYP 3A4를 유도하는 약물과 병용 투여하면 혈중 농도가 감소한다.¹¹⁾

로바스타틴은 40 mg을 경구투여 하였을 때 30%의 흡수율을 가지고, 최고혈중 농도는 2~4시간에서 10~20 ng/ml이며 생체

[#]Corresponding Author

In Koo Chun

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

Tel.: 02-940-4523 Fax.: 02-941-7652

E-mail: ikchun@dongduk.ac.kr

이용률은 5% 정도로 매우 낮다.³⁾ 이와 같이 로바스타틴의 난용성, 난흡수성 및 부작용 등의 개선과 관련하여 경구 적용을 위한 여러 가지 제제학적 방법들이 시도되었다. 2-히드록시프로필- β -시클로덱스트린과의 포접 복합체 형성 및 혼연법에 의한 고체복합체,¹²⁾ 고체지질 나노입자,¹³⁾ 삼투압 펌프 정제,¹⁴⁾ 변형 메뚜기콩검과의 고체분산체,¹⁵⁾ 생분해 다공성 전분의 포말,¹⁶⁾ 나노구조의 지질 담체¹⁷⁾ 및 담즙산류를 이용한 십이지장 점막 투과 증진¹⁸⁾ 등이 보고되었다.

또한 피부 적용을 위한 제제설계로는 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 유드라짓 RL 100 및 트리에틸시트레이트를 사용한 매트릭스형 필름,¹⁹⁾ 유드라짓 RL 100 및 RS 100의 혼합 필름,²⁰⁾ 탄성 리포솜²¹⁾ 및 미세 처방의 이온토포레시스²²⁾ 등이 보고되었다. 경피 흡수 제제는 약물의 초회통과효과 회피 및 안정적으로 낮은 혈중 농도 유지를 통한 이상약물반응을 줄일 수 있는 등의 장점이 있다. 하지만 이러한 경피 전달 시스템이 효과를 발휘하기 위해서는 약물이 피부 장벽을 투과하여 원하는 부위에 원하는 농도로 도달해야 한다.²³⁾ 이러한 경피 전달 시스템을 이용하면 로바스타틴의 황문근 용해와 같은 근육독성 및 간독성, 간 초회통과 효과와 소화관내 장세포 및 간세포에 존재하는 CYP 효소에 의한 대사, P-당단백에 의한 유출로 인해 흡수 불균일, 제한적인 장 점막 투과성 및 병용 약물에 의한 혈중농도의 현저한 변화 등을 극복할 수 있을 것으로 기대된다.

따라서 본 연구에서는 로바스타틴의 새로운 감압 점착성 매트릭스형 경피 전달 시스템 설계를 위한 기초적인 정보를 얻고자 친수성 및 친유성의 여러 용제에서 로바스타틴의 용해도를 측정하고, 투과 촉진제를 사용하여 무모 마우스 피부와 사람 피부를 통한 투과를 증진시키고자 하였다.

실험방법

피부 모델

피부 투과 시험에 사용한 실험동물로 무모 마우스(6~8 주령, 수컷)를 (주)오리엔트 바이오(Seongnam, Korea)에서 구입하였고, 실험이 진행될 때까지 사료와 물이 공급되었으며 1주 이내에 사육하였다. 사람 시체 피부는 한스바이오메드(Hans Biomed Corp., Seoul, Korea)에서 구입하여 -70°C 냉동고에 보관하였으며, 시험 전날 저녁부터 냉장고에서 해동한 후 시험 당일 상온의 생리 식염수액으로 가볍게 씻어 사용하였다. 동물 취급은 동덕여자대학교 동물윤리위원회 규정을 준수하였다.

재료 및 시약

로바스타틴(한국유나이티드제약 제공)과 내부표준물질로 사용한 심바스타틴(한올바이오파마 제공)은 제약급을 사용하였다. 용제로 프로필렌글리콜 모노카프릴레이트(PGMC, Capryol[®] 90),

프로필렌글리콜 모노라우레이트(PGML, Lauroglycol[®] 90), 디에틸렌글리콜 모노에틸에테르(DGME, Transcutol[®] P), 프로필렌글리콜 디카프릴로카프레이트(LBF PG, Labrafac[®] PG)은 Gattefossé사(Gennevilliers Cedex, France)로부터 구입하였고, 그 밖의 용제로 폴리에틸렌글리콜 400(PEG 400), 이소프로필미리스테이트(IPM, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), N-메틸-2-피롤리돈(NMP, Junsei, Tokyo, Japan), 디메틸설폭사이드(DMSO) 및 프로필렌글리콜(PG, Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Japan)을 사용하였다. 피부 투과촉진제로 사용한 올레산, 리놀레산, 카프릴산, 카프릴산, 올레일알코올 그리고 계면활성제로 라우릴황산나트륨(SLS), 향산화제로 디부틸히드록시톨루엔(BHT), 부틸히드록시아니솔(BHA), 에데트산나트륨(EDTA)은 씨그마-알드리치 사(St. Louis, MO, USA)에서 구입한 것을 사용하였다. 이동상으로는 HPLC급 메탄올(J. T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA)을 쓰고, 물은 정제수를 가지고 초순수제조장치(Human power II+, Human Co., Seoul, Korea)를 통과시켜 $18\text{ M}\Omega$ 이상인 것을 사용하였다. 기타 시약 및 용제류는 시판 시약급을 사용하였다.

기기 및 장치

액체크로마토그래프는 펌프(PU-2080 plus, Jasco, Tokyo, Japan), 오토 샘플러(AS-2051plus, Jasco, Tokyo, Japan), 칼럼 오븐(CO-2067plus, Jasco, Tokyo, Japan), 자외선 검출기(UV-2075 plus, Jasco, Tokyo, Japan)로 구성된 것을 사용하였다. 향온 진탕 수욕장치(GFL, Burgwedel, Germany), 향온 순환기(FT-102, Labfine Instruments, Anyang-si, Korea) 및 프란츠 셀 투과시험 장치(FCDS-900C, Labfine Instruments, Anyang-si, Korea) 등을 사용하였다.

HPLC 법에 의한 로바스타틴의 정량

로바스타틴의 정량은 Chun¹⁸⁾이 사용한 방법을 준용하여 다음과 같이 실시하였다. 칼럼은 Gemini[®] C18 칼럼($5\ \mu\text{m}$, $110\ \text{\AA}$, $4.60 \times 150\ \text{mm}$, Phenomenex[®], Torrance, CA, USA)으로 칼럼 향온 조에서 25°C 로 유지되었다. 이동상으로는 메탄올·물 혼합액(4:1, v/v)을 사용하고, 유속 $1.5\ \text{ml}/\text{분}$ 으로 유출시켜 파장 $238\ \text{nm}$ 에서 검출하였다. 검액 및 표준액을 오토 샘플러를 이용하여 $20\ \mu\text{l}$ 씩 주입하였으며 크로마토그램으로부터 내부표준물질에 대한 로바스타틴의 피크면적비를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 검액 중 로바스타틴의 농도를 측정하였다. 따로 표준액은 로바스타틴 표준품 $40\ \text{mg}$ 을 메탄올에 녹여 정확하게 $20\ \text{ml}$ 로 한 원액($2000\ \mu\text{g}/\text{ml}$)을 50% 메탄올로 희석하여 $0.5\sim 15\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 조제하고, 내부표준액은 심바스타틴 표준품을 가지고 같은 방법으로 조제하여 $20\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 하였다. 이들 액을 각각 1:1 부피 비로 섞어 표준액으로 하여 검량선을 작성하였다.

친수성 및 친유성 용제 중 용해도 측정

여러 종류의 용제, 공용제 및 리셉터 용액을 바이알에 0.5~1 ml씩 넣고 로바스타틴을 일정 과량으로 넣은 다음 밀전하고, 30°C에서 48시간 이상 진탕하여 용해 평형에 도달하게 한 후 정치하였다. 각 용액의 상정액을 0.45 µm 나일론 시린지 필터(Whatman)로 여과한 후 여액 100 µl를 취해 95% 메탄올로 용해량에 따라 100~1000배 희석하였다. 희석한 액 150 µl에 내부표준액 150 µl를 넣어 볼텍스 혼합하여 검액으로 하였다. 검액 20 µl를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 피크면적비를 구하여 검량선으로부터 용해도를 산출하였다. 공용제로는 DGME, NMP 및 DMSO를 3:3:4(v/v)의 비율로 섞은 혼합액을 조제하고 이 액 0.5 ml를 바이알에 넣고 안정화제로 BHT 0.5 mg을 넣어 녹인 후 사용하였다. 리셉터 용액은 pH 7.0 등장 인산염완충액에 계면활성제로 SLS를 0.05% 농도가 되도록 넣고 안정제로 EDTA를 0.05% 되게 넣어 녹인 용액을 사용하여 위에서와 같이 용해도를 측정하였다.

무모 마우스 적출 피부 투과 시험

피부의 적출 - 무모 마우스 7~8 주령의 수컷을 에테르로 마취 사시키고 해부대 위에 올려놓은 다음 등쪽 피부를 적당한 크기로 잘라낸 후 지방, 조직 및 혈관 등을 김와이프스 티슈로 제거하고 생리식염수로 가볍게 세척하였다. 적출한 피부는 약 1.2 cm × 1.2 cm 크기로 9등분 하여 즉시 피부 투과 시험에 사용하였다.

피부 투과시험 - 프란츠 셀의 온도를 32°C로 유지하고, 적출한 무모 마우스의 등쪽 피부를 표피 쪽이 도너 셀을 향하도록 하여 투과 면적 0.64 cm² 인 리셉터 셀의 윗면에 밀착시키고 도너 셀을 덮어 클램프로 고정하였다. 리셉터 셀 내부에 기포가 생기지 않도록 주의하면서 0.05% SLS를 함유하는 pH 7.0 등장인산염완충액에 항산화제로서 EDTA를 0.05% 농도로 첨가한 용액을 기포가 생기지 않도록 조심하여 5 ml씩 채우고 스타-헤드 마그네틱 바로 600 rpm으로 교반하였다. 각 도너 셀에는 여러 종류의 로바스타틴 함유 도너 용액을 200 µl씩 넣고 마개로 막아주었다. 약물 용액을 넣은 후 일정 시간마다 리셉터 셀로부터 투과액을 150 µl씩 취하고, 취한 양만큼 새로운 리셉터 액으로 보충 해주었다. 채취한 투과액과 내부표준용액을 1:1 부피비로 섞어 볼텍스 혼합하고, 그 20 µl를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 피크면적비를 구하고 표준액의 피크면적비와 비교하여 누적 투과량을 구하였다.

단일 용제의 영향 - 단일 용제로는 DMSO, DGME, EtOH, IPM, LBF PG, NMP, 올레일알코올, PEG 400, PG, PGMC 및 PGML을 사용하였다. 각 용제 1 ml에 로바스타틴 10 mg과 항산화제로 BHT 1 mg을 녹여 도너 용액으로 하였다. 앞에서 기술한 피부 투과시험 방법에 따라 조작하고 분석하여 누적 투과량을 구하였다.

투과 촉진제의 영향 - 투과 촉진제로서 포화 지방산인 카프르산과 카프릴산, 불포화 지방산인 올레산과 리놀레산 및 지방알코올인 올레일알코올을 사용하였다. 단일 용제 또는 공용제 [DGME, NMP 및 DMSO를 3:3:4(v/v)의 비율로 섞은 혼합액]에 각각의 투과 촉진제를 3 및 5 v/v % 농도로 첨가하고 이 액 1 ml에 로바스타틴 10 mg과 항산화제로 BHT 1 mg을 넣어 녹여 도너 용액으로 하였다. 앞서 언급한 피부 투과 시험 방법에 따라 조작하고, 분석한 후 누적 투과량을 구하였다.

초기 도너 농도의 영향 - 단일 용제 중 도너 농도의 영향을 검토하기 위하여 DMSO 970 µl에 투과 촉진제로 올레일알코올 30 µl를 넣고 항산화제로 BHT 1 mg을 첨가한 후, 이 액에 로바스타틴을 각각 2.5, 5, 10 및 20 mg 녹여 도너 용액으로 하고 앞에서 기술한 피부 투과 시험을 하여 경시적으로 누적 투과량을 구하였다. 또한 공용제 중 도너 농도의 영향을 검토하기 위하여 DGME, NMP 및 DMSO 혼합액(3:3:4, v/v) 1 ml에 항산화제로 BHT 1 mg을 첨가한 후, 이 액에 로바스타틴을 각각 10, 20, 40 및 80 mg씩 녹여 도너 용액으로 하고 피부 투과 시험을 실시하여 경시적으로 누적 투과량을 구하였다.

사람피부 투과시험

피부의 준비 - 냉동고에 보관한 사람 시체 피부를 해동하고 생리식염수로 씻은 다음 3 cm × 3 cm 사람 사체 피부를 1.5 cm × 1.5 cm 크기로 네 등분하고 즉시 리셉터 셀의 윗면에 밀착시켜 고정하였다. 이때 표피가 도너 셀을 향하도록 하였다.

투과 촉진제의 영향 - DMSO 또는 공용제 [DGME, NMP 및 DMSO의 혼합액(3:3:4, v/v)]에 촉진제로서 각각 올레산, 리놀레산 및 올레일알코올을 3 내지 10 v/v%가 되도록 조제하고 이 액 1 ml에 로바스타틴을 10 또는 20 mg씩 녹이고 항산화제로서 BHT 및 BHA 각 1 mg씩을 넣어 녹여 도너 용액으로 하였다. 이들 액 200 µl를 가지고 앞에서 기술한 피부 투과시험을 실시하여 경시적으로 누적 투과량을 구하였다.

초기 도너 농도의 영향 - 공용제 950 µl에 투과 촉진제로 리놀레산 50 µl를 넣고 항산화제로 BHT 및 BHA 각 1 mg씩을 넣어 녹인 용액에 로바스타틴을 각각 10, 20, 40 및 80 mg씩 녹여 도너 용액으로 하였다. 앞의 피부 투과시험 방법에 따라 조작하여 경시적으로 누적 투과량을 구하였다.

데이터 처리

로바스타틴의 누적 투과량은 Gwak 등²⁴⁾ 및 Lee 등²⁵⁾의 방법에 따라 시간에 대하여 플롯을 하여 누적 곡선의 직선 부분으로부터 정상상태 플럭스(J_s)를 구하였고 지체시간(hr)은 직선 부분을 외삽하여 x 축과의 교점으로부터 구하였다. 모든 데이터는 평균값 ± 표준편차(n=3~6)으로 나타내었다. 통계 비교는 GraphPad Prism 5(GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)의

Student's *t*-test and analysis variance(one-way ANOVA, Dunnett's multiple comparison test)를 실시하여 *p* 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

로바스타틴의 분석 조건

본 연구의 용해도 측정 및 투과시험에 적용한 HPLC 법은 Chun¹⁸⁾의 방법을 준용하였다. 내부표준물질로 심바스타틴(20 µg/ml)을 사용한 로바스타틴 표준액(20 µg/ml)과 용해도 측정시의 검액에 대한 분석 크로마토그램을 검토한 결과 내부표준 물질은 약 4.9분대에 로바스타틴은 약 6.1분대에 양호하게 분리되었다. 투과시험에서 얻은 검액의 분석 크로마토그램에서도 다른 성분의 영향은 없었다. 로바스타틴의 농도를 0.5, 1, 2, 5, 7, 10 및 15 µg/ml로 변화시켜 크로마토그램을 얻어 내부표준물질에 대한 로바스타틴의 피크면적비를 구하여 검량선(Fig. 1)을 작성하고, 하루에 3회 실험을 시행하여 일내 재현성을 구하고, 같은 방법으로 3일간 실험을 반복하여 일간 재현성을 검토한 결과 $y = 0.0881x - 0.0004$ ($R^2 = 0.9999$) 및 $y = 0.0977x - 0.0219$ ($R^2 = 0.9984$)로 양호한 직선성이 얻어졌으며, 일내 정확성은 0.43%, 정밀성은 1.44%이었고, 일간 정확성은 0.41%, 정밀성은 1.42%이었다.

친수성 및 친유성의 단일 용제 중 로바스타틴의 용해성

로바스타틴은 물에 거의 녹지 않는 약물로 보고되어 있다.¹⁸⁾ 경피 흡수제제를 설계하기 위해서는 로바스타틴을 일정한 농도로 적절한 용제에 녹이거나 분산시킬 필요가 있다. 이 연구에서는 로바스타틴을 적절히 녹일 수 있는 용제를 검색하기 위해 친수성 및 친유성 용제들을 대상으로 로바스타틴의 용해도를 30°C에서 측정하여 그 결과를 Table I에 나타내었다. 로바스타틴은 산화 및 가수분해에 취약함이 보고되어,²⁶⁻²⁸⁾ 이 시험에는 용제에 BHT(0.1%)를 첨가하여 시험을 실시하였다. 또 투과시험에 있어서 리셉터 액의 싱크 조건을 확보하여 위하여 가용화제로

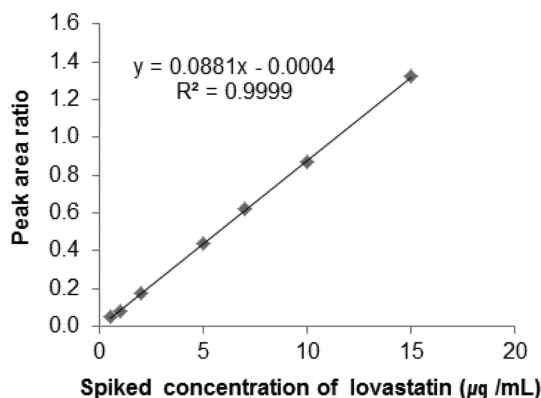


Fig. 1 – Calibration curve of lovastatin for intraday variability study.

Table I – Solubility of lovastatin in various vehicles at 30°C

| Vehicles | Solubility (mg/ml) |
|---------------------------------|--------------------|
| NMP | 278.21±10.06 |
| DMSO | 162.18±29.68 |
| Cosolvent ^{a)} | 159.58±9.21 |
| EtOH | 34.64±1.59 |
| DGME* | 31.51±5.33 |
| PGMC* | 20.22±2.59 |
| PGML* | 13.67±0.32 |
| PEG 400* | 10.40±0.11 |
| PEG 300* | 10.32±0.02 |
| PEG 200* | 6.58±4.48 |
| PG | 4.33±0.14 |
| Oleyl alcohol | 4.10±0.54 |
| LBF PG | 3.47±0.80 |
| IPM | 1.13±0.12 |
| Receptor solution ^{b)} | 0.0326±0.00353 |
| Water* | 0.00085±0.00 |

Data were expressed as the mean±S.D. (n=3). *Some data were cited from previous our data.¹⁸⁾ ^{a)}Cosolvent was a mixture of DGME, NMP and DMSO (3:3:4, v/v) where BHT (0.1%) was added as an antioxidant. ^{b)}pH 7.0 isotonic phosphate buffer solution containing SLS (0.05%) as a solubilizer and EDTA (0.05%) as an antioxidant.

SLS²⁹⁾와 안정제로 EDTA(0.05%)를 첨가한 pH 7.0 인산염완충액에서도 용해도를 측정하였다. 로바스타틴의 용해도에 대한 보고¹⁸⁾와 이 연구에서 얻은 데이터를 종합하여 검토하면, 물에서는 용해도가 0.85±0.00 µg/ml로 거의 녹지 않았던 것에 비하여, NMP 및 DMSO 중에서는 각각 278.2±10.1 및 162.2±29.7 mg/ml로 매우 잘 녹았고, 그 다음으로 EtOH>>DGME>PGMC>PGML>PEGs>PG>OAl>LBF PG>IPM 순서이었다. 리셉터액에서는 예상 패치제의 크기를 10 cm×4 cm로 제조할 경우 로바스타틴의 1일 용량을 20 mg으로 하고, 매트릭스 형성제인 감압접착제와 혼합하는 약물 용액을 1 ml로 가정할 때, 적어도 1 ml 중 20 mg 이상의 로바스타틴을 녹일 수 있는 용제가 필요하다. 이를 감안할 때 NMP와 DMSO는 경피 전달 시스템의 약물 용액 조제를 위한 용제로서 충분한 용해성을 갖는 것으로 생각된다.

공용제 중 용해도

앞에서 기술한 바와 같이 로바스타틴의 용해도가 매우 양호하였던 용제는 NMP와 DMSO이었다. 그러나 NMP와 DMSO는 순수 용제로 피부에 적용할 경우의 피부 자극, 홍반 등의 유해반응을 일으킬 수 있음³⁰⁾을 고려하여 그 비율을 감소시키고자 경피흡수 제제의 약물 용액의 용제이면서 투과촉진 효과가 있는 것으로 알려진 DGME를 NMP와 DMSO의 등량 혼합액에 40% 비율로 첨가하였다. 즉, 이들 3종 용매의 혼합액인 NMP, DMSO 및 DGME의 혼합액(3:3:4, v/v)을 만들고 이 공용제 중 용해도를 측정할 결과 159.6±9.2 mg/ml이었다. 이 정도의 용해량은 로바스타틴의 감압접착성 패치제의 설계에 충분하다고 생각된다.

리셉터 용액 중 용해도

본 연구의 투과실험에 사용한 장치인 프란츠 셀의 리셉터 액으로서 pH 7.0 등장 인산염완충액에 가용화제로 SLS를 0.05%가 되게 넣고 EDTA를 0.05%로 넣어 녹인 용액이 싱크 조건을 유지하는지 확인하고자 이 용액에서의 용해도를 측정하였다. 미국약전의 로바스타틴 정에서는 용출시험액에 SLS를 2.2% 첨가하는 것으로 되어 있으나,²⁹⁾ 이 연구에서는 피부의 장막층에 대한 영향을 최소화하고자 그것의 1/44 정도로 첨가하였다. 그 결과 용해도는 $32.6 \pm 3.53 \mu\text{g/ml}$ 로 물에서의 용해도보다 35배 이상 높았으며, 리셉터 용액 5 ml가 로바스타틴을 녹일 수 있는 양은 150 μg 이었다. 용액처방으로부터의 누적 투과량이 최대 10 $\mu\text{g/ml}$ 이었던 점을 고려하면, 이 정도의 용해성 확보는 싱크조건을 유지할 수 있다고 생각된다.

무모 마우스 적출 피부를 통한 로바스타틴의 투과성

단일 용제 중 로바스타틴의 적출 피부 투과 - 로바스타틴의 피부 투과를 효과적으로 증가시킬 수 있는 용제를 검색하고자 11종의 단일 용제가 피부 투과에 미치는 영향을 비교 검토하였다. 그 결과 12시간 후의 투과량은 NMP와 DMSO를 제외하고는 대부분 1 $\mu\text{g/cm}^2$ 을 이하이었고, 24시간 후에도 NMP와 DMSO만 각각 6.9 ± 1.1 및 $5.9 \pm 1.6 \mu\text{g/cm}^2$ 의 누적 투과량을 보였다. 그러나 IPM과 LBF PG는 2~3 $\mu\text{g/cm}^2$ 정도의 투과량을, 올레일알코올, PEG 400, DGME 및 PGML은 로바스타틴을 전혀 투과시키지 않았다. Table II에는 경시적으로 투과가 일어난 몇 가지 용제에서의 정상상태 플럭스(J_s), 지체시간(T_L) 및 겉보기 투과계수(P_{app})를 (1) 및 (2) 식^{24,31)}에 따라 구하여 표시하였다. 투과 플럭스의 크기는 $\text{NMP}(0.69 \pm 0.08 \mu\text{g/cm}^2/\text{hr}) \approx \text{DMSO} > \text{PG} \approx \text{IPM}(0.10 \pm 0.01 \mu\text{g/cm}^2/\text{hr})$ 로 단일 용제에서는 NMP와 DMSO를 제외하고는 거의 모든 용제에서 투과성이 매우 낮음을 알 수 있다. 이러한 낮은 투과는 높은 지용성에도 불구하고³²⁾ 로바스타틴의 분자 크기($\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_5$: 404.54)²⁹⁾가 상대적으로 커서 경피 흡수에 불리하기 때문인 것으로 생각된다.

Table II - Permeation parameters of lovastatin through the excised hairless mouse skin from various pure vehicles

| Vehicles | Permeation parameters | | | |
|-------------------|---|---|-----------------|---------------------------------------|
| | $Q_{24\text{hr}}$ ($\mu\text{g/cm}^2$) | J_s ($\mu\text{g/cm}^2/\text{hr}$) | T_L (hr) | P_{app} ($\times 10^{-7}$ cm/s) |
| NMP | 6.93 ± 1.09 | $0.69 \pm 0.08^*$ | 3.97 ± 1.23 | 0.37 ± 0.22 |
| DMSO | 5.94 ± 1.64 | $0.47 \pm 0.12^*$ | 1.13 ± 0.86 | 0.31 ± 0.27 |
| PG ¹⁾ | 3.02 ± 0.51 | 0.12 ± 0.09 | N.A. | 0.03 ± 0.02 |
| IPM ¹⁾ | 2.20 ± 0.30 | 0.10 ± 0.01 | 2.20 ± 1.67 | 0.03 ± 0.00 |

Data were expressed as the mean \pm S.D. (n=3). Donor dose was 10 mg/ml (2 mg/0.64 cm²) in NMP and DMSO. ¹⁾Saturated solutions. All vehicles were added with 0.1% BHT. J_s : steady state flux. T_L : lag time. P_{app} : apparent permeability coefficient. N.A.: not available. Significantly different (p<0.05) from PG and IPM.

$$J_s = (dQ/dt)_{ss} \times 1/A = DKC/h \quad (1)$$

$$P_{app} = (dQ/dt) \times 1/A \times 1/C_s \quad (2)$$

단, D는 확산계수, K는 피부/용제 간 분배계수, $(dQ/dt)_{ss}$ 는 정상상태 기울기, A는 투과 표면적, h는 피부 두께, C는 도너 액의 일정 농도, C_s 는 포화용액 중 약물 농도를 나타낸다.

단일 용제 중 투과 촉진제가 로바스타틴의 투과에 미치는 영향 - 종래의 연구에 의하면 약물의 피부 투과 증대에 화학적 촉진제로서 알코올, 아민, 아미드, 계면활성제, 지방산, 지방알코올, azone 등 다양한 물질들이 검토되어 왔다.³³⁾ 촉진제를 첨가할 용제로는 약간의 투과를 보였던 NMP와 DMSO 그리고 24시간대 0.3~3 $\mu\text{g/cm}^2$ 수준의 투과를 보인 IPM, LBF PG, PG, EtOH 및 PGMC를 선택하고, 24시간대까지 투과를 보이지는 않았지만 여러 다른 약물에 대해서는 상당한 투과를 보이고 경피 전달 시스템 설계의 공용제로 널리 사용되는 DGME를 선택하였다. DGME는 특히 적절한 다른 용제와 함께 사용할 때 여러 약물들의 피부 투과를 증진시키는 것으로 보고되었다.^{24,34,35)}

이들 8종의 용제에 촉진제로서 올레산과 리놀레산을 각각 5 v/v%씩 첨가하여 24시간대의 누적 투과량을 비교하였다. 그 결과, 촉진 효과도 DMSO에서 가장 컸는데, 용매 단독에서는 $5.9 \pm 1.6 \mu\text{g/cm}^2$ 이었으나 올레산과 리놀레산의 존재 시는 투과량을 각각 약 9.9($58.4 \pm 6.4 \mu\text{g/cm}^2$) 및 9.0배($53.0 \pm 2.3 \mu\text{g/cm}^2$) 증가시켰다. NMP³⁶⁾ 단독에서는 24시간대 누적 투과량이 $6.9 \pm 1.1 \mu\text{g/cm}^2$ 이었으나 올레산 또는 리놀레산 첨가하였을 때 각각 50.0 ± 9.6 또는 $8.9 \pm 0.9 \mu\text{g/cm}^2$ 으로 각각 약 7.2 및 1.5배 정도 증가되었다. 한편 DGME 단독에서는 투과가 일어나지 않았으나 올레산이나 리놀레산을 첨가한 경우 24시간대 투과량은 각각 7.9 ± 4.9 및 $5.1 \pm 6.0 \mu\text{g/cm}^2$ 로 나타났다. 비수성 용제인 IPM, PGMC 및 LBF PG에서는 24 시간 후의 누적 투과량이 3 $\mu\text{g/cm}^2$ 이하로 촉진제의 존재로 오히려 투과가 감소하는 경향을 보여주었다. 여러 용제에 리놀레산(5 v/v%)을 첨가한 경우 12시간대 용제에 따른 누적 투과량의 크기는 대체적으로 $\text{DMSO} \approx \text{NMP} > \text{DGME} > \text{EtOH} > \text{PG} > \text{IPM} > \text{LBF PG}$ 의 순이었고, 친유성 용제보다는 친수성 용제에서 투과량이 크게 나타났다.

이와 같이 용제에 따라 촉진제 효과가 다양하게 나타난 것은 불포화 지방산의 투과촉진 기전이 용제에 따라 피부에 작용하는 정도가 다르고, 용제 중의 약물의 활성도와 용해도 차이가 있기 때문인 것으로 보인다. 지방산의 약물 피부 투과 기전에는 각질층 성분과의 상호작용, 고차 지질층의 교란과 유동성 증가, 각질층으로의 분배 증가 및 약물과 각질층 간의 복합체 형성 등이 알려져 있다.³⁷⁻³⁹⁾

따라서 촉진제 효과가 가장 높게 나타난 DMSO에서 올레산, 리놀레산, 올레일알코올, 카프르산 및 카프릴산의 불포화지방산, 포화지방산 또는 지방알코올의 투과 촉진 효과를 비교하기 위해

Table III – Permeation parameters of lovastatin through the excised hairless mouse skin in DMSO solutions with different penetration enhancers

| Enhancers | Permeation parameters | | | |
|---------------|---|--|---------------|---------------------------------------|
| | Q_{24hr} ($\mu\text{g}/\text{cm}$) | J_s ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$) | T_L (hr) | P_{app} ($\times 10^{-7}$ cm/s) |
| None | 5.9±1.64 | 0.47±0.12 | 1.13±0.86 | 0.31±0.27 |
| Oleyl alcohol | 48.1±8.94 | 5.02±1.13* | N.A. | 1.40±0.31 |
| Oleic acid | 58.4±6.41 | 4.87±2.40* | N.A. | 1.35±0.67 |
| Linoleic acid | 53.0±2.28 | 5.98±0.51** | N.A. | 1.18±0.67 |
| Capric acid | 12.3±4.20 | 0.59±0.06 | 2.29±0.24 | 0.16±0.02 |
| Caprylic acid | 6.0±0.11 | 0.25±0.01 | N.A. | 0.07±0.00 |

Data were expressed as the mean±S.D. (n=3). Donor dose was 10 mg/ml. The concentration of enhancers was 5%. For abbreviations, refer to Table II. Significantly different ($p<0.05$ and $^{*}p<0.01$) from that of None.

각각을 5 v/v%로 첨가하여 누적 투과량을 측정하여 24시간대의 누적 투과량과 투과 파라미터들을 Table III에 나타내었다. DMSO에서의 투과 플럭스($0.47\pm 0.12 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)는 5 v/v%의 올레일알코올, 올레산 및 리놀레산의 존재 시 각각 5.02 ± 1.13 , 4.87 ± 2.40 및 $5.98\pm 0.51 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 로 4배 이상 증가하였고 지체시간이 현저히 단축되었다. 그러나 이들 촉진제류 간에는 그 투과 촉진 효과에 유의성 있는 차이는 보이지 않았다. 포화 지방산류인 카프르산과 카프릴산은 투과 촉진 효과가 전혀 보이지 않았다. 반면에 불포화 지방산인 올레산과 리놀레산의 경우에는 로바스타틴의 투과를 현저히 향상시켰고, 불포화 지방알코올인 올레일알코올의 겔보기 투과 촉진 효과가 두드러졌다. 이와 같이 지방산류의 피부 투과 촉진 효과는 피부 분배율의 증가와 각질층의 라멜라 구조의 교란 등에 기인하는 것으로 생각된다.¹⁹⁾ 이러한 결과는 Andega 등⁴⁰⁾이 에탄올과 물의 공용체에 5 w/v% 농도로 지방알코올을 첨가하여 돼지 및 사람 피부를 통한 멜라토닌의 투과를 향상시킨 연구에서도 살펴볼 수 있다.

단일 용제 중 올레일알코올 농도가 로바스타틴의 투과에 미치는 영향 – DMSO 단일 용제에서 투과 촉진 효과가 양호하였던 올레일알코올의 농도 의존성을 검토하고자 올레일알코올 첨가량을 3~50 v/v%로 농도를 변화시켜 24시간에 걸쳐 경시적으로 누적 투과량을 측정하여 투과 파라미터들을 Table IV에 나타내었다. 투과 플럭스 값은 $10\% \approx 5\% > 30\% > 50\% \geq 3\% \geq \text{None}$ 의 순서였고, 그 값은 각각 5.12 ± 1.07 , 5.02 ± 1.13 , 4.23 ± 0.49 , 1.79 ± 0.10 및 $1.48\pm 0.23 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 이었다. 올레일알코올 5% 농도에서는 3%에 비해 투과가 3.4배 정도 증가하여, 10% 농도에서는 5% 농도에서와 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으며, 30%가 되면 오히려 투과 플럭스가 감소되었고, 50% 농도에서는 30%에 비해 유의성 있게($p<0.05$) 더욱 감소되었다. DMSO에서 올레일알코올의 농도가 30% 이상으로 증가하면 촉진효과가 오히려 감소되는데 이는 약물의 열역학적 활성도가 감소되기 때문인 것

Table IV – Permeation parameters of lovastatin through the excised hairless mouse skin from DMSO solutions containing different concentrations of oleyl alcohol

| Concentration of oleyl alcohol (v/v%) | Permeation parameters | | |
|---------------------------------------|---|--|---------------------------------------|
| | Q_{24hr} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) | J_s ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$) | P_{app} ($\times 10^{-7}$ cm/s) |
| None | 5.9±1.64 | 0.47±0.12 | 0.31±0.27 |
| 3 | 26.0±0.90 | 1.48±0.23 | 0.41±0.06 |
| 5 | 48.1±8.94 | 5.02±1.13*** | 1.40±0.31 |
| 10 | 47.3±3.32 | 5.12±1.07*** | 1.42±0.30 |
| 30 | 38.3±0.22 | 4.23±0.49** | 1.18±0.13 |
| 50 | 12.6±4.21 | 1.79±0.10 | 0.50±0.03 |

Data were expressed as the mean±S.D. (n=3~6). Donor dose was 10 mg/ml ($2 \text{ mg}/0.64 \text{ cm}^2$). BHT (0.1%) was added to all DMSO solutions. For abbreviations, refer to Table II. Significantly different ($p<0.05$ and $^{***}p<0.001$) from that of None.

로 보인다. 전체적으로 보면, 로바스타틴의 DMSO 중 무모 마우스 피부 투과는 올레일알코올의 농도에 의존하지 않았으며, 5~10% 범위에서 그 촉진효과가 최대로 나타났다.

공용제 중 투과 촉진제 효과 – DMSO는 지질층을 교란하여 그 유동성을 증가시킴으로써 약물의 피부로의 분배를 증가시키며, 멤브레인의 단백질과 상호작용을 하여 각질층의 세포간 케라틴의 구조를 변화시키는 것으로 보고되었다.⁴¹⁾ 그러나 그 촉진효과는 농도 의존적으로 최적 투과를 보이기 위해서는 60% 이상이 필요하지만,³³⁾ 고농도로 피부에 적용하는 경우 홍반, 발진, 접촉드러기, 작열감 등을 일으킬 수 있다.³⁰⁾ 따라서 이 연구에서는 DMSO의 비율을 감소시키고자 투과촉진효과와 용해성이 뛰어난 NMP 30% 및 DGME 30%를 첨가하여 DMSO의 비율을 40%로 한 공용체를 사용하였다.

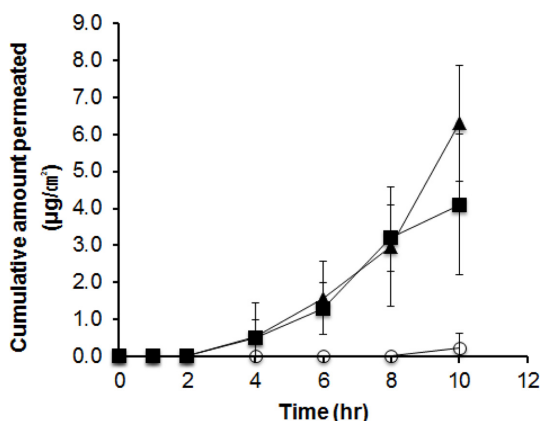


Fig. 2 – Effects of oleic acid and linoleic acid at 5 v/v% on the permeation of lovastatin through the excised hairless mouse skin in a cosolvent as a function of time. Donor dose was 20 mg/ml ($4 \text{ mg}/0.64 \text{ cm}^2$) in the cosolvent. BHT (0.1%) was added to the cosolvent. Key: ○, cosolvent alone; ▲, with oleic acid; ■, with linoleic acid.

이 공용제에 촉진제로 올레산과 리놀레산(5 v/v%)을 첨가하여 10시간까지 경시적으로 로바스타틴의 투과 촉진 효과를 비교 검토하였다. 촉진제의 존재시 로바스타틴의 초기 도너 농도를 20 mg/ml로 하여 얻은 경시적인 투과 프로파일을 Fig. 2에 나타내었다. 올레산과 리놀레산을 5% 농도로 첨가한 경우 10시간대의 누적 투과량은 각각 약 32배 및 21배 증가한 것으로 보였으나, Fig. 2의 데이터로부터 구한 투과 플럭스를 비교하면, 올레산의 존재시의 플럭스($0.90 \pm 0.06 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)는 리놀레산의 존재시($0.69 \pm 0.12 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)와 비교하여 유의성 있는 차이는 없었으며, 지체 시간도 3시간으로 양자 간에 별다른 차이는 없었다. 이러한 결과를 Table III의 DMSO 단독에 촉진제를 첨가한 경우의 플럭스(올레산: $4.87 \pm 2.40 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$, 리놀레산: $5.98 \pm 0.51 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)와 비교해 보면, DMSO에 DGME와 NMP의 첨가는 로바스타틴의 투과를 상당히 감소시키는 것으로 나타났다. 이는 DGME가 투과 효과가 양호한 DMSO와 NMP의 두 용매의 효과를 상대적으로 감소시키기 때문인 것으로 보인다.

초기 도너 농도가 로바스타틴의 피부 투과에 미치는 영향 – 로바스타틴의 초기 도너 약물 농도가 무모 마우스 피부 투과에 미치는 영향을 알아보기 위해 단일 용체인 DMSO에 촉진제로 올레일알코올을 3% 함유한 용액 1 ml에 로바스타틴을 각각 2.5, 5, 10 및 20 mg을 녹여 도너 용액으로 하고, 도너 셀(단면적 0.64 cm^2) 당 0.5, 1, 2 및 $4 \text{ mg}/0.64 \text{ cm}^2$ 이 되게 로딩하여 24시간까지 경시적으로 약물의 누적 투과량을 측정하였다. 약물은 2시간 대부터 투과되어 6 내지 8시간까지 증가하였으며, 그 이후는 증가 속도가 완만하였다. 도너 농도별 투과 플럭스는 2.5, 5, 10 및 $20 \text{ mg}/\text{m}^2$ 에서 각각 1.83 ± 0.74 , 1.92 ± 0.15 , 1.58 ± 0.07 및 $1.45 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 로서 도너 농도 간에는 유의성 있는 차이는 없었다. 약물의 초기 도너 용량이 증가함에 따라 투과 플럭스는 농도의존적인 증가를 보여주지 않았는데, 이는 로바스타틴의 분자 크기가 400 이상으로 커서 투과속도가 매우 느리고, 피부가 투과에 이용할 수 있는 약물 농도에는 한계가 있고, 고농도가 되더라도 피부의 지질층에서 친수 영역으로 이행하는 과정이 유속 단계로 작용하여 투과를 방해하는 것으로 보이지만, 이에 대한 구체적인 원인은 더욱 추구하고 볼 필요가 있다.

한편 공용제(DGME, NMP 및 DMSO 혼합액(3:3:4, v/v))에 촉진제로 리놀레산을 5 v/v% 함유한 용액 1 ml에 로바스타틴을 각각 10, 20, 40 및 80 mg 녹여 도너 용액으로 하고, 도너 셀 당 2, 4, 8 및 $16 \text{ mg}/0.64 \text{ cm}^2$ 이 되게 하여 24시간까지 투과시험을 실시하였다. 앞에서 논의한 바와 같이 공용제 중 로바스타틴의 투과가 DMSO로부터의 투과에 비해 매우 낮은 수준임을 감안하여, 전체적으로 로바스타틴의 농도를 4배 증가시켜 실험하였다. 그 투과 파라미터들을 구하여 Table V에 나타내었다. 투과 플럭스를 도너 농도에 따라 통계분석을 한 결과 농도에 따른 유의성은 없었다. 일반적으로 도너 용량의 증가에

Table V – Permeation parameters of lovastatin through the excised hairless mouse skin in a cosolvent with different concentrations of lovastatin

| Concentration of lovastatin (mg/ml) | Permeation parameters | | |
|-------------------------------------|---|-----------------|---|
| | J_s ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$) | T_L (hr) | P_{app} ($\times 10^{-7} \text{ cm/s}$) |
| 10 | 0.47 ± 0.66 | N.A. | 0.13 ± 0.18 |
| 20 | 0.69 ± 0.12 | 2.88 ± 0.59 | 0.10 ± 0.02 |
| 40 | 0.47 ± 0.02 | 3.61 ± 0.34 | 0.032 ± 0.001 |
| 80 | 0.37 ± 0.09 | 2.66 ± 0.30 | 0.013 ± 0.003 |

Data were expressed as the mean \pm S.D. (n=3). The cosolvent was a mixture of DGME, NMP and DMSO (3:3:4, v/v). Donor dose was 2, 4, 8 and $16 \text{ mg}/0.64 \text{ cm}^2$. Donor solution was added with 5 v/v% linoleic acid and 0.1% BHT. For abbreviations, refer to Table II.

따라 투과 플럭스의 증가가 보이는 것이 일반적이지만, 로바스타틴의 경우 본 연구의 농도 범위에서는 확연한 용량의존성은 보이지 않았다. 이에 대한 검토는 더욱 추구하고 볼 필요가 있을 것이다.

사람 피부를 통한 로바스타틴의 투과

단일 용제 및 공용제 중 투과촉진제의 영향 – DMSO 단일 용제에 올레일알코올을 3, 5 및 10 v/v%로 첨가하고 로바스타틴($10 \text{ mg}/\text{m}^2$)의 사람 피부 투과에 미치는 영향을 10시간에 걸쳐 투과를 검토한 결과 사람 피부에서는 투과가 전혀 일어나지 않았다. 한편 올레산 및 리놀레산을 DMSO에 각각 5 v/v% 농도로 첨가하여 피부투과를 관찰한 결과, 6시간대부터 약간의 투과가 일어났으며 10시간대 누적 투과량은 각각 1.87 ± 0.69 및 $1.24 \pm 0.47 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 로 약간의 투과를 보였다.

한편 공용제에서는 올레산과 리놀레산(5 v/v%) 존재 시 로바스타틴($20 \text{ mg}/\text{m}^2$)의 투과 양상을 10시간에 걸쳐 시험한 결과 모두 4시간대부터 투과가 일어났으며, 10시간대의 누적 투과량은 3.95 ± 0.45 및 $4.63 \pm 1.07 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 로서 DMSO 단독에서보다 약 2.1 및 3.7배 증가되었다. 또한 공용제에 리놀레산의 농도를 3, 5 및 10 v/v%로 달리하여 투과시험을 실시하여 얻은 투과 파라미터를 Table VI에 나타내었다. 이에서 보는 바와 같이 리놀레산의 농도가 5 v/v%일 때 투과가 3 v/v%일 때에 비해 플럭스가 약 6.7배 증가하였으며 10 v/v%일 때는 유의성 있게 ($p < 0.05$) 투과가 감소하였다. 이상의 결과를 볼 때 사람 피부에서는 무모 마우스 피부와 달리 DMSO 단독에서보다 공용제에서 투과 촉진 효과가 컸으며, 올레산과 리놀레산 간에는 촉진효과가 유사하였고, 5 v/v% 농도에서 유의성 있게 높은 투과를 보였다. 또 공용제에서는 무모 마우스 피부와 사람 피부 사이에 현저한 차이는 없었다. 이러한 설치류와 사람 피부간의 투과 차이에 대한 논의에 대해서는 다른 연구들⁴²⁻⁴⁴⁾에서도 찾아 볼 수 있다.

Table VI – Permeation parameters of lovastatin through the human cadaver skin in a cosolvent with different concentrations of linoleic acid

| Concentration of linoleic acid (v/v%) | Permeation parameters | | | |
|---------------------------------------|--|---|------------|------------------------------------|
| | Q_{10hr} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) | J_s ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$) | T_L (hr) | P_{app} ($\times 10^{-7}$ cm/s) |
| None | 0.68±0.32 | 0.11±0.01 | 2.82±0.49 | 0.03±0.001 |
| 3 | 1.39±0.74 | 0.13±0.09 | 2.97±0.18 | 0.04±0.02 |
| 5 | 5.06±2.49 | 0.87±0.46* | 2.55±0.67 | 0.11±0.06 |
| 10 | 2.33±0.68 | 0.25±0.06 | 2.34±0.31 | 0.07±0.02 |

Data were expressed as the mean±S.D. (n=3~6). Donor dose was 20 mg/ml (4 mg/0.64 cm²) in the cosolvent. The cosolvent was a mixture of DGME, NMP and DMSO (3:3:4, v/v) where was added with 0.1% BHT and 0.1% BHA. For abbreviations, refer to Table II. Significantly different (*p<0.05) from that of None.

Table VII – Permeation parameters of lovastatin through the human cadaver skin in a cosolvent with different donor concentrations

| Concentration of linoleic acid (v/v%) | Permeation parameters | | | |
|---------------------------------------|--|---|------------|------------------------------------|
| | Q_{10hr} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) | J_s ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$) | T_L (hr) | P_{app} ($\times 10^{-7}$ cm/s) |
| 10 | 13.9±6.3 | 0.57±0.35 | 3.38±0.55 | 0.16±0.10 |
| 20 | 11.7±9.15 | 0.87±0.46 | 2.55±0.67 | 0.11±0.06 |
| 40 | 11.8±5.4 | 0.55±0.22 | 2.46±1.96 | 0.04±0.02 |
| 80 | 6.6±1.6 | 0.31±0.07 | 3.34±1.16 | 0.01±0.00 |

Data were expressed as the mean±S.D. (n=3~6). Donor dose was 2, 4, 8 and 16 mg/0.64 cm². The cosolvent was a mixture of DGME, NMP and DMSO (3:3:4, v/v) where was added with 5 v/v linoleic acid, 0.1% BHT and 0.1% BHA. For abbreviations, refer to Table II.

초기 도너 농도의 영향 – 도너 용량이 공용제로부터 사람 피부를 통한 투과에 미치는 영향을 검토하기 위하여 로바스타틴의 농도를 10~80 mg/ml로 변화시켜 얻은 투과 파라미터들을 Table VII에 나타내었다. 이에서 보면 로바스타틴 농도가 10~80 mg/ml 범위에서는 그 플럭스 값에 유의한 차이가 없었다. 이는 무모 마우스 피부에서의 결과(Table V)와 유사한 결과이다. 초기 도너 용량이 4 mg/0.64 cm²일 때의 플럭스 값 0.87±0.46 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 을 고찰해보면 그 면적을 70 cm²로 가정할 때 24시간 동안 체내에 전달할 수 있는 양은 대략 1.46 mg에 상당하여, 20 mg 경구 투여시의 생체이용률이 5%인 점을 고려하면 동등 이상의 로바스타틴을 체내에 전달할 수 있음을 의미한다. 이로 볼 때 공용제에 리놀레산을 첨가한 복합 효과에 의해 사람 피부를 통한 로바스타틴의 체내 약물 전달이 가능하다고 생각된다.

결 론

난용성인 로바스타틴의 피부 투과를 증진시키고자 친수성 및 친유성의 용제 그리고 공용제 중 용해도를 측정하고, 이들 용제

로부터의 무모 마우스와 사람의 피부 투과 양상 및 각종 투과 촉진제들의 영향을 검토하였다. 그 결과 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 로바스타틴의 용해도(mg/ml, 30°C)는 NMP(278.2±10.1) >> DMSO(162.2±29.7) > EtOH >> DGME > PGMC > PGML > PEGs > PG > OAI > LBF PG > IPM > 물(0.85±0.00)의 순서이었다.

2. 무모 마우스 피부 투과시험에서, NMP와 DMSO는 24 시간 후 각각 6.9±1.1 및 5.9±1.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 누적 투과량을 보였으나, IPM과 LBF PG는 2~3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 투과량을, 올레일알코올, PEG 400, DGME 및 PGML은 전혀 투과를 나타내지 않았다.

3. 무모 마우스 피부에서 리놀레산(5 v/v%)의 존재 시 12시간 대 용제에 따른 누적 투과량은 대체적으로 DMSO ≥ NMP > DGME > EtOH > PG > IPM > LBF PG의 순이었고, 친유성 용제보다는 친수성 용제에서 투과량이 크게 나타났다. DMSO에 올레일알코올 농도를 3~50 v/v%로 변화시킨 결과, 5 v/v%에서 투과 촉진 효과가 가장 컸으며, 플럭스는 5.02±1.13 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 이었다. DMSO에 올레산 및 리놀레산(5 v/v%)을 첨가한 경우 플럭스는 각각 4.87±2.40 및 5.98±0.51 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 로 현저히 향상되었다.

4. 공용제(DGME, NMP 및 DMSO의 혼합액(3:3:4, v/v))에서는 올레산 존재시의 플럭스(0.90±0.06 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)는 리놀레산의 존재시(0.69±0.12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$)와 비교하여 유의성 있는 차이는 없었으며, DMSO 단독에서의 플럭스보다 현저히 낮았다.

5. 도너 농도를 DMSO(0.5, 1, 2 및 4 mg/0.64 cm²)와 공용제(2, 4, 8 및 16 mg/0.64 cm²)에서 각각 변화시킨 결과 유의성 있는 플럭스의 증가는 보이지 않았다.

6. 사람 피부 투과시험에서, DMSO와 공용제에 올레산 및 리놀레산(각 5 v/v%)을 첨가한 경우, DMSO에서는 10시간대 누적 투과량이 각각 1.87±0.69 및 1.24±0.47 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 이었고, 공용제에서는 각각 3.95±0.45 및 4.63±1.07 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 로서 DMSO에서보다 약 2.1 및 3.7배 투과량이 증가되었다. 리놀레산의 농도(3~10 v/v%)를 변화시킨 결과, 투과 촉진 효과는 5 v/v%에서 가장 컸으며, 로바스타틴의 농도(2.5~20 mg/0.64 cm²)를 변화시킨 경우에는 플럭스 값들에 유의한 차이가 없었다. 도너 용량이 4 mg/0.64 cm²일 때의 플럭스는 0.87±0.46 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ 이었다.

이상의 연구 결과는 로바스타틴의 새로운 경피 흡수 제제의 설계와 개발에 기초적인 자료가 될 수 있다고 생각된다.

감사의 말씀

이 논문은 2010년도 동덕여자대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행된 것임.

References

- Alverts, A. W. : Discovery, biochemistry and biology of

- lovastatin. *Am. J. Cardiol.*, **62**, J10 (1998).
- 2) Manzoni, M. and Rollini, M. : Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol-lowering drugs. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58**, 555 (2002).
 - 3) Corsini, A., Bellosta, S., Baetta, R., Fumagalli, R., Paoletti, R. and Bernini, F. : New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol. Ther.* **84**, 413 (1999).
 - 4) Shitara, Y. and Sugiyama, Y. : Pharmacokinetic and pharmacodynamic alterations of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors: drug-drug interactions and interindividual differences in transporter and metabolic enzyme functions. *Pharmacol. Ther.* **112**, 71 (2006).
 - 5) Chuengsamarn, S., Rattanamongkoulgul, S., Suwanwalaikorn, S., Wattanasirichaigoon, S. and Kaufman, L. : Effects of statins vs. non-statin lipid-lowering therapy on bone formation and bone mineral density biomarkers in patients with hyperlipidemia. *Bone* **46**, 1011 (2010).
 - 6) Xia, Z., Tan, M. M., Wei-Lynn Wong, W., Dimitroulakos, J., Minden, M. D. and Penn, L. Z. : Blocking protein prenylation is essential for lovastatin-induced apoptosis of human acute myeloid leukemia cells. *Leukemia* **15**, 1398 (2001).
 - 7) Jacobs, R. J., Voorneveld, P. W., Kodach, L. L. and Hardwick, J. C. H. : Cholesterol metabolism and colorectal cancers. *Current Opinion Pharmacol.* **12**, 690 (2012).
 - 8) Gauthaman, K., Fong, C. Y. and Bongso, A. : Statins, stem cells, and cancer, *J. Cell. Biochem.* **106**, 975 (2009).
 - 9) Silva, M. A., Swanson, A. C., Gandhi, P. J. and Tataronis, G. R. : Statin-related adverse events: A meta-analysis. *Clin. Ther.* **28**, 26 (2006).
 - 10) Wortmann, R. L., Tipping, R. W., Levine, J. G. and Melin, J. M. : Frequency of myopathy in patients receiving lovastatin. *Am. J. Cardiol.* **95**, 983 (2005).
 - 11) Bellosta, S., Paoletti, R. and Corsini, A. : Safety of statins: focus on clinical pharmacokinetics and drug interactions. *Circulation* **109**, III50 (2004).
 - 12) Patel, R. P. and Patel, M. M. : Solid-state characterization and dissolution properties of lovastatin hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex. *Pharm. Technol.* **31**, 72 (2007).
 - 13) Suresh, G., Manjunath, K., Venkateswarlu, V. and Satyanarayana, V. : Preparation, characterization, and in vitro and in vivo evaluation of lovastatin solid lipid nanoparticles. *AAPS Pharm. Sci. Technol.* **8**, E1 (2007).
 - 14) Mehramizi, A., Asgari Monfared, E., Pourfarzib, M., Bayati, Kh., Dorkoosh, F. A. and Rafiee-Tehrani, M. : Influence of β -cyclodextrin complexation on lovastatin release from osmotic pump tablets (OPT). *DARU* **15**, 71 (2007).
 - 15) Patel, M., Tekade, A., Gattani, S. and Surana, S. : Solubility enhancement of lovastatin by modified locust bean gum using solid dispersion techniques, *AAPS Pharm. Sci. Technol.* **9**, 1262 (2008).
 - 16) Wu, C., Wang, Z., Zhi, Z., Jiang, T., Zhang, J. and Wang, S. : Development of biodegradable porous starch foam for improving oral delivery of poorly water soluble drugs. *Int. J. Pharm.* **403**, 162 (2011).
 - 17) Chen, C. C., Tsai, T. H., Huang, Z. R. and Fang, J. Y. : Effects of lipophilic emulsifiers on the oral administration of lovastatin from nanostructured lipid carriers: physicochemical characterization and pharmacokinetics. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **74**, 474 (2010).
 - 18) Chun, I. K. : Dissolution and duodenal permeation characteristics of lovastatin from bile salt solid dispersions. *J. Kor. Pharm. Sci.* **39**, 97 (2009).
 - 19) Shinde, A. J., Paithane, M. B. and More, H. N. : Development and in vitro evaluation of transdermal patches of lovastatin as a antilipidemic drug. *Int. Res. J. Pharm.* **1**, 113 (2010).
 - 20) Zawar, L. R., Bhandari, G. S. and Bari, S. B. : Formulation and evaluation of transdermal film of lovastatin. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* **2**, 575 (2011).
 - 21) Sharma, S., Sharma, A., Arora, S. and Gupta, A. : Preparation, characterization, in vitro & in vivo evaluation of elastic liposomal formulation of lovastatin. *J. Pharm. Res.* **4**, 4074 (2011).
 - 22) Sarvaiya, J. I., Kapse, G. K. and Tank, C. J. : Iontophoresis of micellar composition of lovastatin: study of affecting factors and in vitro permeation. *J. Pharm. Res.* **7**, 327 (2013).
 - 23) Kumar, R. and Philip, A. : Modified transdermal technologies: breaking the barriers of drug permeation via the skin. *Trop. J. Pharm. Res.* **6**, 633 (2007).
 - 24) Gwak, H. S. and Chun, I. K. : Effect of vehicles and penetration enhancers on the in vitro percutaneous absorption of tenoxicam through hairless mouse skin. *Int. J. Pharm.* **236**, 57 (2002).
 - 25) Lee, J. H. and Chun, I. K. : Effects of various vehicles and fatty acids on the skin permeation of lornoxicam. *J. Pharm. Invest.* **42**, 235 (2012).
 - 26) Álvarez-Lueje, A., Pastine, J., Squella, J. A. and Nunez-Vergara, L. J. : Assessment of the hydrolytic degradation of lovastatin by HPLC. *J. Chil. Chem. Soc.* **50**, 639 (2005).
 - 27) Yang, D. J. and Hwang, L. S. : Study on the conversion of three natural statins from lactone forms to their corresponding hydroxy acid forms and their determination in Pu-Erh tea. *J. Chromatogr. A* **1119**, 277 (2006).
 - 28) Huang, Z., Xu, Y., Li, Y. and Wang, Y. : Conversion investigation for lovastatin and its derivatives by HPLC. *J. Chromatogr. Sci.* **48**, 631 (2010).
 - 29) Lovastatin Tablets, *The United States Pharmacopeia*, Volume II,

- The United Book Press, Baltimore, pp. 2815-2817 (2009).
- 30) Kligman, A. M. : Topical pharmacology and toxicology of dimethyl sulfoxide. *J. Am. Med. Assoc.* **193**, 796 (1965).
- 31) Barry, B. W. : *Dermatological Formulations: Percutaneous Absorption*, Marcel Dekker, New York, pp. 49-94 (1983).
- 32) Serajuddin, A. T., Ranadive, S. A. and Mahoney, E. M. : Relative lipophilicities, solubilities, and structure-pharmacological considerations of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors pravastatin, lovastatin, mevastatin, and simvastatin. *J. Pharm. Sci.* **80**, 830 (1991).
- 33) Williams, A. C. and Barry, B. W. : Penetration enhancers. *Adv. Drug Del. Rev.* **56**, 603 (2004).
- 34) Ganem-Quintanar, A., Lafforgue, C., Falson-Rieg, F. and Buri, P. : Evaluation of the transepidermal permeation of diethylene glycol monoethyl ether and skin water loss. *Int. J. Pharm.* **147**, 165 (1997).
- 35) Mura, P., Faucci, M. T., Bramanti, G. and Corti, P. : Evaluation of transcutool as a clonazepam transdermal permeation enhancer from hydrophilic gel formulations. *Eur. J. Pharm. Sci.* **9**, 365 (2000).
- 36) Hoelgaard, A., Møllgaard, B. and Baker, E. : Vehicle effect on topical drug delivery. IV. effect of N-methylpyrrolidone and polar lipids on percutaneous drug transport, *Int. J. Pharm.* **43**, 233 (1988).
- 37) Golden, G. M., McKie, J. E. and Potts, R. O. : Role of stratum corneum lipid fluidity in transdermal drug flux. *J. Pharm. Sci.* **76**, 25 (1987).
- 38) Komata, Y., Kaneko, A. and Fujie, T. : In vitro percutaneous absorption of thiamine disulfide through rat skin from a mixture of propylene glycol and fatty acid or its analog. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 2173 (1992).
- 39) Santoyo, S. and Ygartua P. : Effect of skin pretreatment with fatty acids on percutaneous absorption and skin retention of piroxicam after its topical application. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **50**, 245 (2000).
- 40) Andega, S., Kanikkannan, N. and Singh, M. : Comparison of the effect of fatty alcohols on the permeation of melatonin between porcine and human skin. *J. Controlled Release* **77**, 17 (2001).
- 41) Oertel, R. P. : Protein conformational changes induced in human stratum corneum by organic sulfoxides: an infrared spectroscopic investigation. *Biopolymers* **16**, 2329 (1977).
- 42) Roy, S. D., Hou, S.-Y. E., Witham, S. L. and Flynn, G. L. : Transdermal delivery of narcotic analgesics: comparative metabolism and permeability of human cadaver skin and hairless mouse skin. *J. Pharm. Sci.* **83**, 1723 (1994).
- 43) Ghosh, B., Reddy, L. H., Kulkarni, R. V. and Khanam, J. : Comparison of skin permeability of drugs in mice and human cadaver skin. *Indian J. Exp. Biol.* **38**, 42 (2000).
- 44) Godin, B. and Toutou, E. : Transdermal skin delivery: predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models. *Adv. Drug Del. Rev.* **59**, 1152 (2007).