creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000234342

경피 약물 흡수 모델의 개선을 위한 무모마우스 피부와 고분자 막 사이의 상관성 연구

Study of correlation between hairless mouse skin and polymeric membrane to improve transdermal drug absorption model

2007년 8월 23일

조선대학교 대학원

약학과

김 재 일

경피 약물 흡수 모델의 개선을 위한 무모마우스 피부와 고분자 막 사이의 상관성 연구

지도교수 최 후 균

이 논문을 약학 석사학위신청 논문으로 제출함

2007년 4월

조선대학교 대학원

약학과

김 재 일

김재일의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교 수 최준식 인

위 원 조선대학교 조교수 한효경 인

위 원 조선대학교 교 수 최후균 인

2007년 5월

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT ····· 4

제1장 서 론 ····· 5

제2장 실험방법 ····· 7

제3장 결과 및 고찰 ····· 9

제4장 결 론 ····· 12

참고문헌 ····· 13

표 목 차

Table 1. Comparison of the acyclovir fluxes across hairless mouse skin and artificial membranes (polyether block amide (PBA) membrane, polyurethane (PU) membrane, or copolyester (CPE) membrane) ····· 15

도 목 차

Figure 1. Comparison of the penetrated drug concentration across hairless mouse skin from the commercial cream formulations ····· 16

Figure 2. Comparison of the penetrated drug concentration across polyether block amide membrane from the commercial cream formulations ····· 17

Figure 3. Comparison of the penetrated drug concentration across polyurethane membrane from the commercial cream formulations ····· 18

Figure 4. Comparison of the penetrated drug concentration across copolyester membrane from the commercial cream formulations ····· 19

Figure 5. Correlation between the acyclovir fluxes across hairless mouse skin and artificial membrane (polyether block amide (PBA) membrane (a), polyurethane (PU) membrane (b), or copolyester (CPE) membrane (c)) ····· 20

ABSTRACT

Study of correlation between hairless mouse skin and polymeric membrane to improve transdermal drug absorption model

Kim Jae-Il

Advisor: Prof. Choi Hoo-Kyun Ph.D.

College of Pharmacy,

Graduate School of Chosun University

The aim of this work was to prepare a novel drug penetration model which cannot sacrifice the animal used for research and is independent to the individuality of the animal in the transdermal drug delivery system. Three different artificial membranes which were polyether block amide, polyurethane and copolyester, was tested to search the appropriate model using six commercial acyclovir formulations. When the hairless mouse skin and three artificial membranes were correlated, no statistical linear correlation was shown in 0.05 of the significance level, though polyurethane and copolyester membrane somewhat seemed to be linear. When we compare five generic formulations with original formulation (Zovirax), any formulations did not show significant lower drug permeation.

제1장 서론

약물 투여를 위한 경로로서 경피를 통한 약물 투여는 다른 경로에 비해서 초회 통과 효과 (first pass effect), 지속적인 약물 전달, 환자 순응도 향상 등의 많은 장점을 가지고 있다. 따라서 경피를 통한 약물 전달 시스템은 많은 연구자들에게 여전히 매력적인 약물 전달 매체로서 연구되어지고 있다 [1-3]. 경피를 통한 약물 전달 시스템을 연구하기 위해서는 hairless mouse, shed snake skin 등의 생체막을 이용한 약물의 생체막 투과 연구가 필수적이다. 하지만 이들 생체막을 사용하여 피부 투과도를 연구하기 위해서는 이들 실험동물들의 희생이 필연적이라고 할 수 있다.

하지만, 1964년 헬싱키 선언에서 제창된 것처럼 인간을 대상으로 하는 의학연구에 있어서의 생명 윤리에 대한 관심이 점진적으로 고조되면서 최근에는 인간의 생명뿐만 아니라 실험동물들에 대한 윤리의식도 강조되고 있기 때문에 실험동물의 희생을 최소화 시킬 필요가 있다. 이 뿐만 아니라 생체막을 이용할 경우, 실험동물의 종 (race)과 성 (gender), 적용부위의 수화 (hydration) 여부, 피부의 상태, 피부의 조건, 투약시 적용방법 및 투여부위 등에 따라 피부 투과율이 달라질 수 있다 [4].

따라서 이들 실험동물들의 희생을 최소화하고 개체차에 의존하지 않는 새로운 약물 흡수 모델로서 인공 합성막에 대한 연구가 진행되고 있다 [4-9]. 하지만 기존에 경피흡수 모델에 이용되고 있는 생체막과의 좋은 상관성을 갖고 있는 인공 합성막은 잘 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 여러 가지 인공 합성막을 이용하여 막투과도를 조사하여 hairless mouse 생체막에서의 피부투과도와의 상관성을 연구하고자 한다.

본 연구에 사용한 모델 제제로, 시판중인 여러 가지 acyclovir 연고제를 선택하였다. 이 약물은 점막 및 피하에 발생한 재발성 단순포진 (HSV-1, HSV-2)의 예방 및 초기 치료와 단순포진성 뇌염, 대상포진, 성기

헤르페스 감염의 치료에 널리 사용되고 있다.

제2장 실험방법

1. 재료 및 시약

Acyclovir 연고제들은 Zovirax™ cream (Glaxo Wellcome Operations, Greenford, Middlesex, UK) (Cream-1), Vacrovir® cream ((주)한독약품) (Cream-2), Sinil Acyclovir cream ((주)신일제약) (Cream-3), Acyvir cream ((주)한영제약) (Cream-4), Hyundai Acyclovir cream ((주)현대약품공업) (Cream-5) 그리고 KDC Acyclovir cream ((주)고려제약) (Cream-6)를 사용하였다. 테스트한 인공 합성막은 polyether block amide (Mylan® 840), polyurethane (Mylan® 437) 그리고 copolyester (Mylan® 330) 막을 사용하였으며 이들은 Mylan technologies Inc. (St. Albans, VT, USA)로부터 제공 받았다.

2. In Vitro 경피 흡수 시스템

약물의 피부투과도를 측정하기 위해서, 다채널 연동펌프 (IPC-24, Ismatec, Switzerland), 분획 수집기 (Retriever IV, ISCO, NE), 순환식 수조 (Jeio-Tech, Korea), 그리고 flow-through diffusion cell로 구성된 flow-through 확산 장치를 사용하였다. Flow-through diffusion cell은 연동펌프를 통해 receiver cell을 거쳐 분획 수집기쪽으로 receiver cell media를 연속적으로 전달할 수 있도록 고안되었다. Receiver cell의 온도는 receiver cell의 바깥쪽 jacket을 통해 일정온도의 물을 순환시켜 37°C를 유지하였다. Receiver cell의 입구쪽의 표면적은 2 cm^2였고, 셀 부피는 5.5 ml이었다. 무모 마우

스 피부의 준비과정, 투과도 측정 과정 그리고 데이터 분석법은 이전 연구에 기술된 것과 같은 방법을 사용하였다 [1]. 각각의 시험할 acyclovir 연고제를 무모 마우스의 피부나 여러 가지 인공 합성막에 도포한 다음, 투과된 양을 측정하기 위해 미리 정해진 시간 간격으로 시료를 채취하여 HPLC를 이용하여 투과된 약물의 농도를 측정하였다.

3. HPLC 분석법

Acyclovir의 생체막 또는 인공 합성막 투과량을 측정하기 위해 자외선 검출기(SPD-10A), pump (LC-10AD), automatic injector (SIL-10A)로 구성된 HPLC 시스템 (Shimadzu Scientific Instruments, Kyoto, Japan)을 사용하였다. 이때 분석파장은 254 nm이었으며, 역상 칼럼 (Gemini 5 µm C18, 4.6*150 mm, Phenomenex, CA, USA)을 사용하였다. 칼럼 온도는 thin foil temperature controller (CH 1445, SYSTEC, MN, USA)을 사용하여 30°C를 유지하였다. 이동상은 methanol/0.84 mM phosphoric acid 수용액 (1:9) 혼합 용매를 사용하였으며 이동상의 이동속도는 1 ml/min으로 하였다.

제3장 결과 및 고찰

1. Hairless mouse 피부을 이용한 약물의 피부 투과도

Trottet 등은 시판중인 acyclovir cream 제제들을 상대로 생물학적 동등성을 비교하였을 때, 일부 제네릭 제제들이 기준에 미달되는 것으로 보고하였다 [10]. 또한 Stoughton과 Hadgraft 등도 기존 경피제제들의 비동등성을 보고하였다 [11-12]. 이들 보고들에 의하면, 이미 시판중인 제네릭 제제라고 할지라도 약효가 완전히 검증되었다고는 말할 수 없을 것으로 판단된다. 따라서 국내에 시판중인 acyclovir cream 제제들을 대상으로 hiarless mouse 피부를 이용한 in vitro 투과도를 Figure 1에서 보이는 바와 같이 비교하였다. Control로 사용된 Cream-1의 경우 중반까지 거의 투과가 되지 않다가 후반부에 접어들면서 급격하게 약물이 투과되는 것을 알 수 있었다. 즉, lag time이 상당히 긴 것으로 나타났다. Cream-2와 Cream-6의 경우 중반 이후부터 약물의 투과량이 Cream-1에 비해 현저하게 증가함을 보여주었다. 전반적으로 이들 제제들간의 피부 투과도를 판단할 때, control 제제인 Cream-1과 테스트한 모든 제네릭 제제들의 피부투과도는 유사하거나 높은 것으로 나타났다. 비록 hairless mouse를 이용한 in vitro 투과 결과가 실제적인 각 제제들간의 생물학적 동등성을 판단하기에는 부족한 면이 있지만 이들 결과로 판단해 볼 때, 테스트한 제네릭 제제들은 생물학적 동등성이 떨어지지 않을 것으로 사료된다.

2. 다양한 인공 합성막을 이용한 약물의 막 투과도

경피를 통한 약물 전달 시스템을 연구하기 위해서는 hairless mouse,

shed snake skin 등의 생체막을 이용한 약물의 생체막 투과 연구가 필수적이다. 따라서 이들 실험동물들의 희생을 최소화하고 개체차에 의존하지 않는 새로운 약물 흡수 모델로서 인공 합성막인 polyether block amide 막, polyurethane 막, 그리고 copolyester 막을 이용한 막 투과도를 연구하였다.

Figure 2에 polyether block amide 막을 이용한 각 제제들의 막 투과도 결과를 나타내었다. Figure 2에서 보는 바와 같이, Cream-1에 비해 모든 제제들의 막 투과도는 높게 나타났다. 그리고 특히 Cream-4와 5의 경우 훨씬 투과도가 높음을 알 수 있었다. 이들 경향은 앞서 보였던 hairless mouse 피부를 이용한 피부투과도와 비교하였을 때 상이한 결과를 보여 주었다.

Polyurethane 막을 이용한 각 제제들 간의 막 투과도를 비교하였을 때 (Figure 3), Cream-2와 6의 경우, Cream-1과 비교하였을 때 투과도가 높게 나타났고 Cream-3, 4, 5의 경우 낮은 결과를 보여 주었다. 이 결과는 hairless mouse 피부을 이용한 생체막을 통한 투과도와 최종 투과량을 비교하였을 때 Cream-2와 3을 제외하고는 유사한 경향을 나타내었다.

Figure 4에 copolyester 막을 이용한 각 제제들의 막 투과도 결과를 나타내었다. Cream-2, 3, 6은 Cream-1에 비해 막 투과도가 높게 나타났고, Cream-4와 5는 낮게 나타났다. 이는 hairless mouse 피부를 이용한 투과도 결과와 비교하였을 때, polyurethane 막을 이용한 경우와 마찬가지로 Cream-2와 3을 제외하고는 유사한 경향을 나타내었다. 또한 각각의 생체막과 인공 합성막의 플럭스를 살펴보았을 때 (Table 1), 모든 제제들에 있어서 polyether block amide 막이 가장 높은 플럭스를 나타내었고 polyurethane, hairless mouse, copolyester 순이었다. Copolyester 막의 경우 생체막인 hairless mouse 피부보다도 낮은 플럭스를 나타내었다.

3. 생체막과 인공 합성막 사이의 투과 상관성 연구

생체막과 인공 합성막 사이의 투과 상관성을 연구하기 위해 hairless mouse 피부와 polyether block amide 막, polyurethane 막, 또는 copolyester 막을 통한 약물 플럭스들 간의 상관성을 조사한 결과 (Figure 5), hairless mouse 피부와 polyether block amide 막 사이에는 직선성을 전혀 찾아볼 수 없었고, hairless mouse 피부와 polyurethane 막 또는 copolyester 막 사이에는 어느 정도의 직선성을 보였지만 통계학적 유의수준 0.05로 상관성을 판단하였을 때 상관성은 없는 것으로 판명되었다.

제4절 결 론

현재 각종 약물의 경피를 통한 제제 개발을 위해 여러 가지 모델이 사용되고 있지만 이들 제제를 개발하기 위해서는 많은 동물의 희생이 필연적이다. 또한 이들로부터 얻어진 data도 각각 동물의 연령이나 성별 등의 개체차에 의존한다. 따라서 본 연구를 통해 얻은 결과를 바탕으로 이들 동물들의 희생을 최소화하고 개체차에 의존하지 않는 인공 합성막을 이용한 새로운 약물 흡수 모델을 찾고자 하였으나 polyurethane에서 어느 정도의 직선성은 보였지만 통계학적 상관성은 없는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Y.-J. Choi, H.-K. Choi, Enhancement of percutaneous absorption of ketoprofen: effect of vehicles and adhesive matrix, Int. J. Pharm., 169, 95-104, 1998.
2. H.-M. Ki, H.-K. Choi, The Effect of Meloxicam/Ethanolamine Salt Formation on Percutaneous Absorption of Meloxicam, Arch. Pharm. Res., 30, 215-221, 2007.
3. B.-T. Gwak, M.-K. Chun, H.-K. Choi, Preparation of tenoxicam salt with ethanolamine to enhance the percutaneous absorption, J. Kor. Pharm. Sci., 36, 169-174, 2006.
4. D. Van der Merwe and J.E. Riviere, Comparative studies on the effects of water, ethanol and water/ethanol mixtures on chemical partitioning into porcine stratum corneum and silastic membrane, Toxicology in Vitro, 19, 69-77, 2005.
5. N.A. Megrab, A.C. Williams, B.W. Barry, Oestradiol permeation through human skin and silastic membrane: effects of propylene glycol and supersaturation, J. Control. Release, 36, 277-294, 1995.
6. S. Jain, P. Jain, R.B. Umamaheshwari, N.K,. Jain, Transfersomes - a novel vesicular carrier for enhanced transdermal delivery: delvelopment, characterization, and performance evaluation, Drug Dev. Ind. Pharm., 29, 1013-1026, 2003.
7. G. Cevc, G. Blume, A. Schätzlein, D. Gebauer, A. Paul, The skin: a pathway for systemic treatment with patches and lipid-based agent carriers,

Adv. Drug Del. Rev., 18, 349-378, 1996.

8. P. Corti, E. Dreassi, P. Mura, P.L. Perruccio, In vitro studies of simulated percutaneous absorption: influence of various enhancers in the release of clonazepam from 2-hydroxyethyl acetate patches, Pharmaceutica Acta helvetiae, 72, 263-269, 1998.
9. S.M. Al-Saidan, Transdermal self-permeation enhancement of ibuprofen, J. Control. Release, 100, 199-209, 2004.
10. L. Trottet, H. Owen, P. Holme, J. Heylings, I.P. Collin, A.P. Breen, M.N. Siyad, R.S. Nandra, A.F. Davis, Are all aciclovir cream formulations bioequivalent?, Int. J. Pharm., 304, 63-71, 2005.
11. R.B. Stoughton, Are generic formulations equivalent to trade name topical glucocorticoids?, Arch. Dermatol., 123, 1312-1314, 1987.
12. J. Hadgraft, M. Whitefield, P.H. Rosher, Skin penetration of topical formulations of ibuprofen 5%: an in vitro comparative study, Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol., 16, 137-142, 2003.

Table 1. Comparison of the acyclovir fluxes across hairless mouse skin and artificial membranes (polyether block amide (PBA) membrane, polyurethane (PU) membrane, or copolyester (CPE) membrane).

Formulation	Flux (μg/cm^2/h)			
	Hairless mouse	PBA	PU	CPE
Cream-1	2.02 ± 0.64	8.51 ± 2.53	6.41 ± 0.71	0.12 ± 0.00
Cream-2	3.36 ± 0.09	10.85 ± 2.58	7.35 ± 0.48	0.14 ± 0.00
Cream-3	1.30 ± 0.19	8.91 ± 0.79	5.85 ± 0.49	0.13 ± 0.02
Cream-4	1.42 ± 0.45	18.66 ± 2.89	3.76 ± 0.19	0.07 ± 0.01
Cream-5	1.60 ± 0.25	20.93 ± 0.88	5.69 ± 0.89	0.11 ± 0.00
Cream-6	2.17 ± 0.45	10.76 ± 1.95	7.44 ± 0.36	0.16 ± 0.02

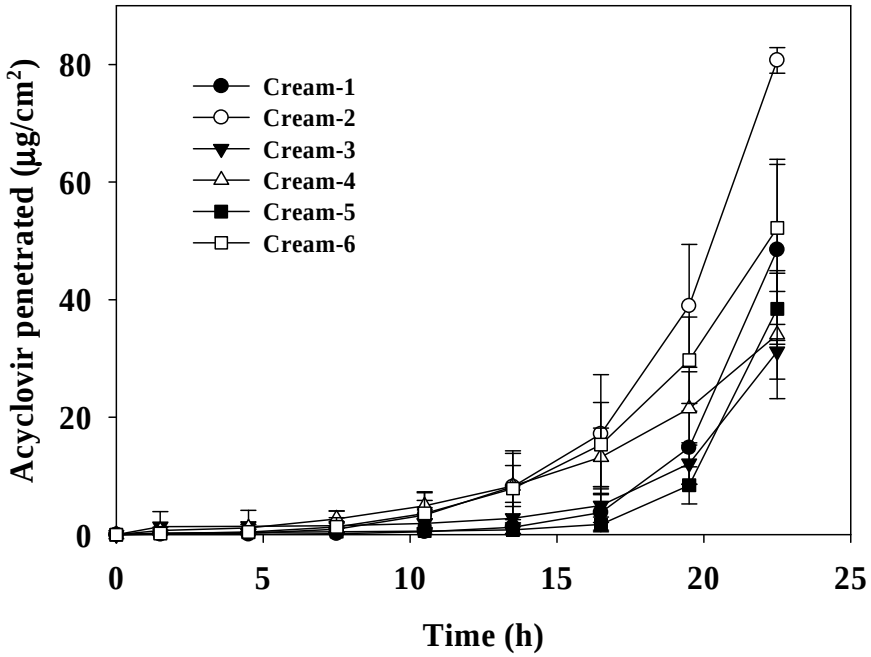

Figure 1. Comparison of the penetrated drug concentration across hairless mouse skin from the commercial cream formulations. (n=4)

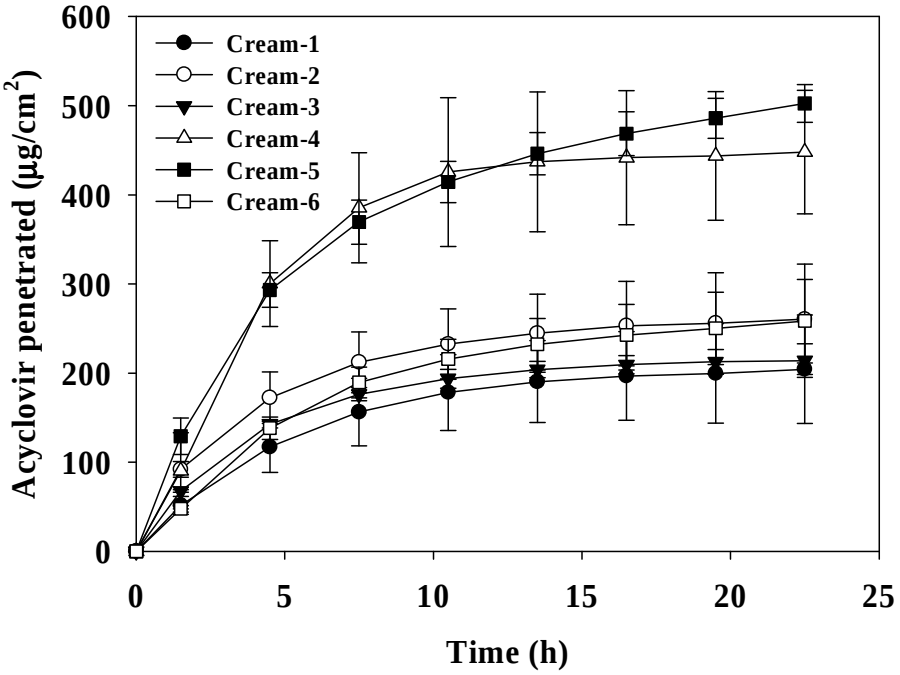

Figure 2. Comparison of the penetrated drug concentration across polyether block amide membrane from the commercial cream formulations. (n=3)

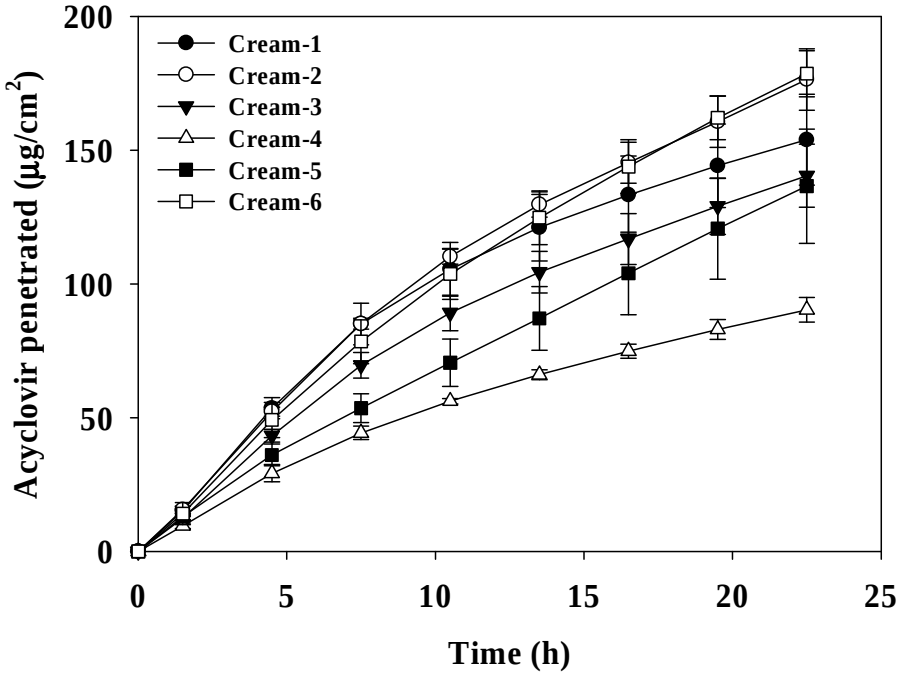

Figure 3. Comparison of the penetrated drug concentration across polyurethane membrane from the commercial cream formulations. (n=3)

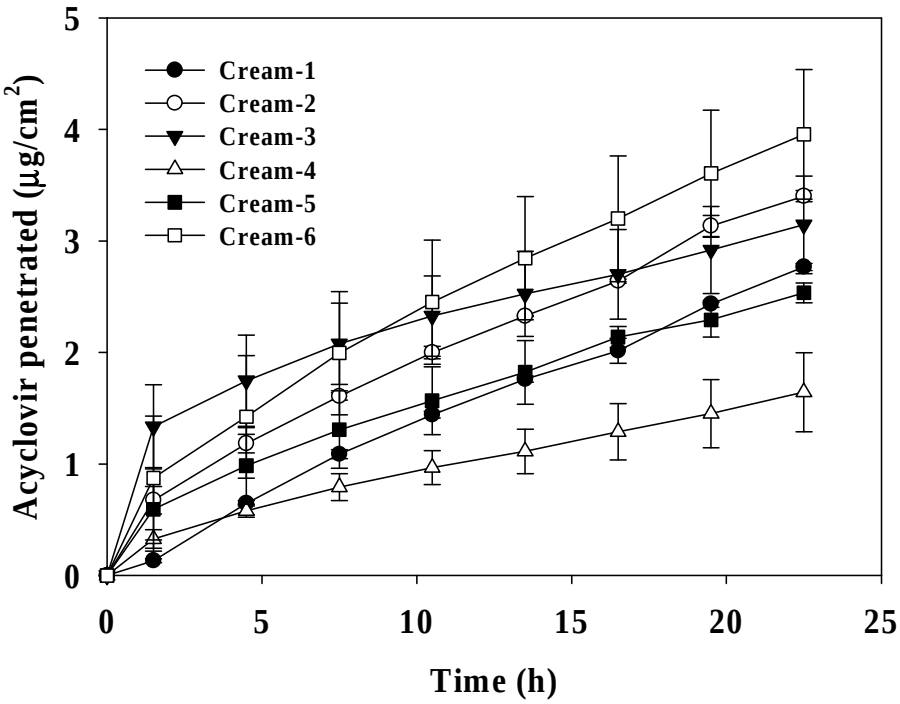

Figure 4. Comparison of the penetrated drug concentration across copolyester membrane from the commercial cream formulations. (n=3)

(a)

(b)

(c)

Figure 5. Correlation between the acyclovir fluxes across hairless mouse skin and artificial membrane (polyether block amide (PBA) membrane (a), polyurethane (PU) membrane (b), or copolyester (CPE) membrane (c)).