creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

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

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 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]I804:24011-200000263843

2013 년 2 월
석사학위논문

Development of transungual drug delivery system for terbinafine

조선대학교 대학원

약 학 과

이 정 필

Development of transungual drug delivery system for terbinafine

터비나핀의 발톱을 투과하는 약물 전달 시스템 개발

2013년 2월 25일

조선대학교 대학원

약 학 과

이 정 필

Development of transungual drug delivery system for terbinafine

지도교수 최 후 균

이 논문을 약학 석사학위신청 논문으로 제출함

2012 년 10 월

조선대학교 대학원

약 학 과

이 정 필

이정필의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 최홍석 (인)

위 원 조선대학교 교수 오원근 (인)

위 원 조선대학교 교수 최후균 (인)

2012 년 11 월

조선대학교 대 학 원

목 차

표 목차 ········· iii

도 목차 · · · · · · · · · v

ABSTRACT · · · · · · · · · viii

1. 서론 ········· 1

2. 재료 및 실험 방법 ········· 5

2.1. 재료 및 시약 ········· 5

2.2. 실험 방법 ········· 6

2.2.1. 접착 매트리스 제조 ········· 6

2.2.2. 투과 실험을 위한 돼지 발톱 준비 ········· 6

2.2.3. 돼지 발톱을 이용한 투과 실험 ········· 7

2.2.4. 무모 마우스 피부를 이용한 투과 실험 ········· 8

2.2.5. 분석 기기 및 분석 조건 ········· 9

2.2.6. 발톱 내에 잔류하는 terbinafine 추출 ········· 9

2.2.7. 적외선 분광법 (IR spectroscopy) ········· 10

3. 결과 및 고찰 ········· 11

3.1. 감압 점착제의 특성에 따른 약물 투과에 미치는 영향········· 11

3.2. 첨가 약물%에 따른 약물 투과에 미치는 영향 ········· 12

3.3. 투과 장벽에 특성에 따른 약물 투과에 미치는 영향 ········· 13

3.4. 다양한 enhancer 의 첨가에 따른 약물 투과에 미치는 영향 ··· 14

3.5. 적외선 분광법 (IR spectroscopy) ········· 16

4. 결론 ····· 19
5. 참고문헌 ····· 21

표 목차

Table 1. Terbinafine flux from the patches containing 10% w/w drug load with respect to dry polymer weight, after the study period of 20 days. Values are expressed as mean± standard deviation. (n=3) · 27

Table 2. Terbinafine flux from the patches containing different drug load with respect to dry polymer weight, after the study period of 20 days. Values are expressed as mean± standard deviation. (n=3) · 28

Table 2. Remaining terbinafine in the nail after permeation experiment at various level of drug loading from PIB and DuroTak® 87-2516, 87-4098, 87-2852, 87-2979 matrix. Values are expressed as mean± standard deviation. (n=3) · 29

Table 3. Enhancement ratio of terbinafine flux from the patches containing 15% w/w drug load and 5% v/w enhancers, with

respect to dry polymer weight, in PIB matrix after the study period of 20 days. (n=3) · · · · · · · · · · · · · · · · · · 30

Table 4. Enhancement ratio of terbinafine flux from the patches containing 15% w/w drug load and 5% v/w enhancers, with respect to dry polymer weight, in DuroTak® 87-2516 matrix after the study period of 20 days. (n=3) · · · · · · · · · 31

도 목차

Figure 1. Chemical structure of terbinafine base. ····· 32

Figure 2. Feature of the human nail plate. ····· 33

Figure 3. Typical set up of nail penetration study chamber. ····· 34

Figure 4. Correlation between cumulative amounts penetrated up to 20 days from various adhesive matrixes at 10 % w/w drug loading and remaining terbinafine in the nail. ····· 35

Figure 5. Correlation between cumulative amounts penetrated at 20 days from various PSA matrix at 10 and 15 % w/w drug loading and remaining terbinafine in the nail. ····· 36

Figure 6. Correlation between cumulative amounts penetrated at 20 days from PIB and DuroTak® 87-2516 matrix at 10 and 15 % w/w drug loading and remaining terbinafine in the nail. ····· 37

Figure 7. Correlation between cumulative amounts penetrated up to 20

days from adhesive matrix at 10 % w/w drug loading using nail membrane and cumulative amounts permeated across hairless mouse skin from 10% w/w drug loading. · 38

Figure 8. Effect of various enhancers on the permeation of terbinafine in PIB matrix, at 15% w/w drug load and 5% v/w enhancers for 20 days. (n=3) · 39

Figure 9. Correlation between cumulative amounts penetrated at 20 days from PIB matrix at 5% v/w enhancer loading and remaining terbinafine in the nail. · · · · · · · · · · · · · · 40

Figure 10. Effect of various enhancers on the permeation of terbinafine in DuroTak® 87-2516 PSA matrix, at 15% drug load and 5% v/w enhancers for 20 days. (n=3) · · · · · · · · · · · · · · 41

Figure 11. Correlation between cumulative amounts penetrated at 20 days from DuroTak® 87-2516 PSA matrix at 5% v/w enhancer loading and remaining terbinafine in the nail. (n=3) · 42

Figure 12. Correlation between enhancement ratio from PIB and DuroTak® 87-2516 matrix at 15% w/w drug loading and 5% w/w enhancer loading. · 43

Figure 13. Peptide bond in protein. · 44

Figure 14. Appearance of porcine hoof soaked within aqueous enhancer mixture solution for 1 week. · · · · · · · · · · · · · · · · · 45

Figure 15. Infrared spectra of porcine hoof treated with various enhancers. (high value of enhancement ratio) · · · · · · 46

Figure 16. Infrared spectra of porcine hoof treated with various enhancers. (high amount of terbinafine remaining in nail) · 47

ABSTRACT

Development of transungual drug delivery system for terbinafine

By Lee Jeung Phil

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

Department of Pharmacy,

Graduate School of Chosun University

Onychomycosis of finger nails and toenails is a disease caused by dermatophytes, fungi such as candida infections. Thus, the current antifungal oral formulation and a topical cream or spray formulation is used as treatment modality, but in order to prevent recurrence and complete treatment of disease, long term management of the time and cost required. So that patient compliance would be hampered.

The purpose of this study was the development of transungual drug delivery system from pressure sensitive adhesive matrix containing terbinafine. The kinds of PSA matrix, effects of drug loading, various vehicles on the permeation of terbinafine from PSA matrix across porcine hoof membrane was evaluated using a plastic penetration chamber containing poloxamer 407 gel at 32 ℃. Poloxamer 407 gel in the presence of terbinafine extract was analyzed quantitatively, different barrier composition of skin and nail were compared by permeability study.

In addition, PPG 400, Triacetin, Propylene glycol, Transcutol®, Labrafil® 1944, NMP, DMSO, PEG 200, Hexylene glycol by incorporating in a non-acrylic and acrylic matrix showed good permeation enhancing effects. FT-IR study of porcine hooves membrane treated with various vehicles revealed that there is conformational change of keratin structure of nail.

Keyword : Onychomycosis; terbinafine; enhancer; pressure sensitive

adhesive; porcine hoof.

1. 서 론

조갑진균증은 손발톱 또는 피부에 피부사상균(70%), 칸디다균 등이 원인으로 감염되어 발병하는 가장 일반적인 손발톱 질환으로서(Lee KH et al., 1993), 주로 면역력이 약한 노령층에서 청장년층의 발병률보다 ~50% 이상 높다 (Baran and Kaoukhov, 2005; Debruyne and Coquerel, 2001). 최근 급증하는 원인으로는 과도한 항생제의 사용으로 면역력의 약화, 수영장이나 헬스장, 목욕탕 등의 대중시설을 이용함으로써 다양한 진균에 노출되기 때문이며 (Suh MK, 2001), 발병부위가 손톱보다는 발톱에서 발병률이 높고 (Ghannoum et al., 2000; Scher, 1994), 또한 손발톱의 생장 속도가 느려서 치료에 요구되는 노력과 시간 및 비용에 상당한 부담 및 감염 위치가 조갑 뿐만 아니라 조판 깊이까지 감염되기 때문에 재발 우려가 큰 문제점을 갖고 있어, 최근에 많은 주목을 받고 있다. 치료방법은 질병의 진행 정도에 따라 감염 부위의 전체 또는 일부를 제거하는 수술을 요구하거나, 감염 정도가 미미한 경우에는 경구 항진균제와 국소 제제를 병행하는 치료방법을 선택한다 (Suh MK, 2001). 그러나 감염 부위 제거 수술은 환자의 고통과 수술 사후의 관리에 많은 노력이 요구되고, 경구제제와 국소 제제의 병용은 특히 간 독성 부작용의 발생과 치료에 필요한 유효한 약물량을 전달하는데 다소 부족하다. 따라서 현재 다양한 치료방법의 시도와 새로운 항진균 치료 약물의 개발, 더 효과적으로 손발톱 질환 치료에 적용할 수 있는 제형 연구가 시도되고 있다 (Niewerth and Korting, 1999).

지금까지 사용된 항진균 약물에는 폴리엔계 약물과 아졸계 약물 중에서도 이미다졸계 약물과 트리아졸계 약물이 있다 (Oh and Ahn, 2009). 경구제제에는 fluconazole, terbinafine, itraconazole 등이 사용되고, 국소용 연고 및 크림에 적용된

항진균제 약물로는 이미다졸 유도체인 clotrimazole, isoconazole과 아릴아민 계열 약물인 terbinafine이 대표적이다 (아인스피부과, 2012). 이 중에서도 이미다졸 계열 약물의 작용 기전은 진균의 투과성과 구조유지 역할을 하는 세포막에 필요한 ergosterol 합성을 억제하여 항진균 작용을 나타낸다 (Oh and Ahn, 2009). 또한, 새롭게 시도되고 있는 아릴아민 계열 약물로는 terbinafine이 있으며 이미다졸계 약물처럼 squalene oxidase를 특이적으로 저해하여 곰팡이의 세포막에만 존재하는 ergosterol의 합성을 방해하고 세포 내의 세포막을 만드는 성분인 squalene을 축적하게 함으로써 사멸 효과를 나타낸다 (Darkes M.J.M. et al., 2003; Oh and Ahn, 2009; Ryder, 1992).

모델 약물인, terbinafine ($C_{21}H_{25}N$, TBF)은 피부와 손발톱 감염 치료를 위해 합성된 아릴아민계 약물이며, 피부 사상균 및 곰팡이 등의 균류에 살진균 작용을 나타내는 항진균 약물로 잘 알려졌다 (Novartis, 1993). Fig 1은 약물 분자의 화학적 구조를 보여주고 있다. 분자량은 291Da이며 pKa 값은 7.1이다 (Alberti et al., 2001a). 약물은 친케라틴 특성을 보이며 옥탄올/물 사이의 분배계수(logP)는 3.3으로 지용성임을 짐작할 수 있다 (Alberti et al., 2001a, b; Brown et al., 2009; Gupta and Shear, 1997). 또한, 낮은 최소 저지 농도 (MIC, ~0.001-0.01ug/mL) 및 낮은 살진균 농도 (MFC, ~0.003-0.006ug/mL)을 지니고 있어 적은 약물량으로도 치료 효과를 확인할 수 있다 (Clayton, 1994; Darkes M.J.M. et al., 2003). 간의 cytochrome P450 산화 효소계 작용이 적고, 다른 약물과 동시 복용하였을 때의 발생할 수 있는 상호 작용이 적다. 마지막으로 적정 기간의 치료 후 재발 우려가 적다는 장점이 있다 (Oh and Ahn, 2009).

Terbinafine은 상업적으로 경구 정제 (1일 최대 250mg)와 국소 제제 (연고, 스프레이 용액, 겔)로 이용한다 (Gupta and Shear, 1997). 경구 정제는 조갑진균증,

피부백선과 같은 전신 치료 방법으로써 사용되고 (Novartis, 1993), 국소 제제는 초기 감염이 발견되었을 때 사용하거나, 경구제제 치료의 보조 치료제로 사용된다. 그러나 효과적으로 곰팡이 감염을 치료하기 위해서, 혈중 내 약물 농도는 치료하는 동안 발병 부위에 최소 억제 농도보다 고농도를 유지해야 한다. 따라서 완치를 위해서는 피부 감염에는 2-6주, 손발톱 감염에는 6-12주 동안 약물 투여가 필요하다 (Novartis, 1993). 그러나 경구 투여는 특히나 간 독성, 약물-약물 상호 결합, 위장 및 전신 부작용, 유당 불내증 등의 부작용을 나타내는 문제를 발생시킨다 (Amichai and Grunwald, 1998). 따라서 위와 같이 언급된 전신 부작용을 회피하면서도 타 질병을 앓고 있는 환자에게도 치료의 부담을 줄일 수 있고, 지속적인 약리 효과를 줄 수 있는 제형 연구가 필요하다. 이에 언급하고자 하는 약물 전달 시스템은 국소 약물 전달 시스템이다.

국소 약물 전달 시스템의 장점은 간 초회 통과를 거치지 않으므로 감염 부위에 신속하게 약리 효과를 발휘함으로써 약물의 생체 이용률을 높일 수 있으며 (Alberti et al., 2001c), 1회 투약으로 장시간 동안 약효 지속 가능하며, 또한 쉽게 약물 투여 및 필요에 따라 사용 중단을 할 수 있어 간편하면서도 치료 비용 절감으로 환자 만족도를 개선할 수 있어 경구 제제의 단점을 극복할 수 있다 (Murdan, 2002).

현재, terbinafine의 항진균 치료로 사용되고 있는 국소 제제로는 분무기형 또는 크림 또는 겔 형태가 있다 (Novartis, 1993). 이 제형은 치료 부위에 도포 후 잔류 용매의 건조 시간이 필요하며, 외부 활동 중에 발생하는 분비물에 의해 쉽게 제거되기 때문에 사용 빈도가 높아져 적어도 1일 1회 이상 사용을 해야 하며, 재발을 방지하고 원인을 제거하기 위해서는 적어도 6개월 (24주) 이상 사용이 요구됨으로써, 환자 본인에게 치료에 대한 부담을 줄 수 있다 (Pittrof F et al., 1992). 그래서 먼저 질병 치료 동안, 환자 순응도를 높일 필요성이 있고 동시에 만족하는 치료 효과를 이루기

위해서는, 약물 수송 시스템은 몇몇 요구 조건을 충족해야 한다. 적용 부위에 적용 횟수를 줄이고, 손쉽게 적용 및 제거할 수 있으며, 손발톱의 만성 질환에 장기간 적용함으로써 환자의 편리성을 개선할 수 있다 (Bohn and Kraemer, 2000).

손발톱 통한 약물 수송 시스템 중에 적용하고자 하는 제형은 접착 패치이다. 패치의 구성은 불투과성 지지체, 약물을 함유된 감압 접착제 매트릭스, 그리고 박리 라이너로 구성하고 있다. 이 시스템에서, 감압 접착제 매트릭스는 손발톱 표면에 장기간 부착될만한 접착력을 제공하며, 약물과 기타 부형제 (투과촉진제, 가소제, 또는 결정방지제)를 배합하여 함유하는 저장소 역할을 한다. 추가로 매트릭스로부터 약물의 용출, 손발톱을 통한 투과 그리고 약물과의 호환성, 기타 첨가제는 적절한 감압 점착제 선정에 고려되는 사항들이다 (Myoung and Choi, 2003).

현재까지, terbinafine을 함유하는 drug-in-adhesive (DIA) 패치를 기초로 하는 발톱 내 약물 수송 시스템에 관한 연구는 그리 많이 보고되어 있지 않다. 이 연구의 목적은 terbinafine을 함유하는 drug-in-adhesive (DIA) 패치의 개발을 하기 위해서이다. 함유하는 약물량에 따른, 다양한 투과 촉진제의 첨가 효과를 포함하는 투과량에 영향을 줄 수 있는 변수들을 돼지 발톱을 사용하여 투과 실험을 진행하며 terbinafine의 투과량과 발톱 내에 잔류된 약물량 사이의 상관관계를 평가하기 위해서이다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1 재료 및 시약

실험에 사용한 terbinafine HCl은 공급받았고, 자체적으로 free base 형태로 바꿔 사용하였다. Poloxamer 407 (Pluronic® F-127)은 BASF Chemical Co., (Seoul, South Korea)에서 공급받았으며, 글리세릴 트리아세테이트 (Triacetin) 은 Sigma Chem. Co. (St. Louis, MO, USA) 로부터, 디메칠설폭사이드 (DMSO) 는 DC Chemical Co., Ltd (Seoul, South Korea) 에서, 에서 구입하였다. 디에칠렌그리콜모노에틸에텔 (Transcutol®), PEG-6 glyceryl monooleate (Labrafil® 1944), PEG-8 glyceryl caprylate/caprate (Labrasol®)은 Masung Chem. Co. (Seoul, South Korea) 에서 구매하였다. Salicylic acid는 Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI)으로부터, 2-Mercaptoethanol, *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP), Propylene glycol, PEG 200, PPG 400, Hexylene glycol은 Junsei Chemical Co., Ltd. (Japan)로부터 구입하였다. Polystyrene-polybutadiene-polystyrene(SBS)와 아크릴계열의 감압 점착제는 National Starch Chemical Co. (Bridgewater, NJ)으로부터, Silicone은 Dow Corning (Midland, MI)으로부터, 그리고 polyisobutylene (PIB; Vistanex LM-MH, Vistanex MML-100)는 Jeil Pharm. Co. (Seoul, Korea) 에서, polystyrene-polyisoprene-polystyrene는 Shell Chemicals (Stanlow, UK) 로부터 구매하였다. 모든 화학 시약은 추가적인 정제 과정 없이 사용하였다.

2.2. 실험 방법

2.2.1. 접착 매트리스 제조

실리콘, Polyisobutylene(PIB), 그리고 아크릴계열의 점착제 용액은 투과촉진제의 사용 여부와 상관없이 유기용매인 ethyl acetate에 녹인 terbinafine 용액과 점착제 용액을 첨가하여 완전히 섞이도록 교반한다. 또한 Styrene-butadiene-styrene (SBS)과 styrene-isoprene-styrene (SIS) 점착제 용액은 chloroform/hexane 혼합액에 녹인 terbinafine 용액과 점착제 용액을 첨가하여 완전히 섞이도록 교반한다. 이 용액을 일정한 두께로 실리콘이 코팅된 박리 라이너에 도포한 후 실온에서 10분, 80℃ 오븐에서 15분 동안 건조해 용매를 완전히 날려보낸다. 건조된 접착 매트릭스 위에 폴리에스터 지지체 (CoTran® 9728, 3M, USA)로 덮어준다.

2.2.2. 투과 실험을 위한 돼지 발톱 준비

발톱 투과 실험을 위해서 돼지 발톱을 깨끗한 물에 씻어 준 후 가위를 사용하여 대략 1.5 cm^2 크기로 잘라둔다. 준비된 돼지 발톱에 함유된 수분을 완전히 제거하기 위해 40 ℃로 설정된 진공 오븐 (5831, Napco Scientific Co., Tualatin, OR)에서 하루 동안 건조한다. 하루 동안 건조된 발톱의 무게를 측정하여 기록해 두고 건조하는 동안 손실되었던 수분을 다시 회복시키기 위해 젖어 있는 거즈를 덮어 32 ℃ 인큐베이터에서 하루 동안 보관한다.

20 (w/w) % poloxamer 수용액을 만들기 위해 poloxamer powder를 4 ℃ 탈이온수에 넣고 teflon이 코팅된 magnetic bar를 사용해서 완전히 용해될 때까지

교반하고, 다음 실험 전까지 4 ℃ 냉장고에 보관하도록 한다. 준비된 poloxamer 수용액 (20 (w/w) %)을 2 mL 씩 6-well tissue culture plate의 각 well에 옮겨 담고 실험에 사용하기 위해 액체 상태에서 gel 상태로 바꾸기 위해 10 분 이상 실온에서 보관한다.

2.2.3. 돼지 발톱을 이용한 투과 실험

준비한 돼지 발톱의 dorsal nail plate에 terbinafine free base가 함유된 패치를 1x1 cm^2크기로 잘라 release liner를 제거하고 붙인다. 각각의 발톱은 6-well tissue culture plate의 각 poloxamer gel 위에 얹어 놓고 gel과 발톱의 다른 한쪽 면 (ventral nail plate)이 완전히 밀착될 수 있도록 가볍게 눌러준다. 투과 실험 진행되는 동안 수분 증발을 막아주기 위해 tissue culture plate는 파라핀 필름으로 밀봉한 후 빛 차단을 위해 호일을 사용하여 감싼다. 투과 실험 조건은 인큐베이터 오븐 (IB-600M, Jeio Tech., Korea)에서 32 ℃를 유지한다. Fig 3은 발톱 투과 실험을 위해 준비한 표본 사진이다. 4 일마다 tissue culture plate에 있는 발톱을 poloxamer gel로부터 분리한 후 poloxamer gel이 제거된 발톱은 새로운 tissue culture plate well에 옮겨 투과 실험 조건에서 계속 진행한다. Poloxamer gel의 제거 과정 중 발톱에 남아 있는 poloxamer gel은 시약스푼을 이용하여 완전히 긁어내서 이전 실험에 사용된 tissue culture plate well에 옮겨 담도록 한다. 기존의 tissue culture plate well에 있는 poloxamer gel에 3 mL의 탈이온수를 넣어 주고 겔 상태에서 액체 상태로 바뀔 수 있도록 4 ℃ 냉장고에 3시간 동안 보관한다. 액체 상태로 바뀐 poloxamer solution을 15 mL 원심분리튜브에 옮겨 담고 poloxamer solution에 함유된 약물을 추출하기 위해 추출용액인 ethyl acetate를 넣어주고 poloxamer

solution과 ethyl acetate가 완전히 섞일 수 있도록 실험용 교반기 (Vortex-Genic 2, US)를 이용하여 섞어준다. 충분히 섞인 후 고속 원심분리기 (VS-4000, Vision Scientific Co., 3000 rpm, 10 min)를 이용하여 상 분리를 해주고 상등액 (ethyl acetate 층)을 취하여 진공원심농축기 (VC-96N, Taitec, Japan)를 이용하여 ethyl acetate를 날려보낸다. 건조된 잔류물에 1 mL 메탄올을 넣고 HPLC로 분석한다.

2.2.4. 무모 마우스 피부를 이용한 경피 투과 실험

돼지 발톱 투과 실험에 사용한 감압 접착제에서의 투과된 약물량과 무모 쥐의 피부를 투과하는 약물량을 비교하기 위해 Franz flow-through diffusion cell을 사용하여 약물의 투과 약물량을 측정한다. Diethyl ester로 마취된 6-8주 된 female hairless mouse에서 full thickness skin을 절제한 후 등 부위의 피부를 실험에 사용하도록 한다. 피하지방, 조직, 그리고 혈관은 가위와 외과용 메스로 조심스럽게 제거한다. 구멍이 나거나 손상되지 않은 피부만 선택하여 6 ㎠ 정도의 크기로 잘라 in vitro 투과 실험을 진행한다. Diffusion cell의 온도는 37 ℃로 유지한다. Receiver cell opening의 표면적은 2 ㎠이며, cell 부피는 5.5 mL이다. Receiver cell은 pH 6.0의 인산 buffer : ethanol = 6 : 4 (v/v) 혼합액으로 모두 채워져 있으며 실험 과정 동안 teflon이 코팅된 magnetic bar를 이용하여 교반한다. 절제된 피부는 각각의 receiver cell 위에 놓고 그 위에 O-ring의 cell cap을 놓고 clamp로 고정한다. Sample은 24시간 동안 4시간마다 모았으며 모아진 sample은 HPLC로 분석한다.

2.2.5. 분석 기기 및 분석 조건

UV detector (SPD-10A), pump (LC-10AD), 그리고 automatic injector (SIL-10A)로 구성된 HPLC system (Shimadzu Scientific Instruments, MD)을 사용한다. UV detector 파장은 223 nm을 사용한다. Reverse phase column (SHISEIDO 250 mm, C_{18})을 사용하며 column 온도는 온도 조절 장치 (CH 1445, SYS-TEC Inc., MN)를 이용하여 30 ℃를 유지한다. Flow rate는 1 mL/min이며, injection volume은 10 μL이다. 이동상의 구성 성분은 methanol/water (84/16, v/v)%이었다.

2.2.6. 발톱 내에 잔류하는 terbinafine 추출

20일 동안 발톱 투과 실험을 종료 후 발톱 표면에 붙어있는 패치를 제거한다. 패치가 제거된 발톱 표면은 패치의 접착제 잔류물을 제거하기 위해 ethyl acetate로 발톱 표면을 닦아준다. 발톱을 네 조각으로 자른 후 각 조각은 각 15 mL 원심분리튜브에 담는다. 그리고 5 mL의 5 % 메탄올 수용액을 발톱이 담긴 용기에 넣어 준다. 이 용기를 잘 밀봉하여 60 ℃ 오븐에서 24시간 동안 보관한다. 24시간 경과 후 용기에 있는 발톱을 꺼내고 5% 메탄올 수용액 층에 존재하는 약물을 추출하기 위해 추출 용액인 6 mL의 ethyl acetate를 첨가하여 섞어준다. 상등액 (ethyl acetate 층)을 취하고 진공원심농축기 (VC-96N, Taitec, Japan)를 이용하여 1시간 동안 건조한다. 건조된 잔류물에 1 mL의 메탄올을 첨가하여 HPLC로 분석한다.

2.2.7. 적외선 분광법 (IR spectroscopy)

돼지 발톱을 물과 투과 촉진제가 1:1 (v/v) 비율로 혼합된 수용액에 1주 동안 32 ℃ 인큐베이터 오븐 (IB-600M, Jeio Tech., Korea)에 보관 후 발톱에 잔류하는 수분을 제거하기 위해 40 ℃ 진공 오븐에서 하루 동안 건조한다. 건조된 발톱을 커터칼을 이용하여 조심스럽게 긁어내서 분말을 취한다. 1 mg 발톱 분말 과 99 mg KBr을 혼합하여 hydraulic press를 이용하여 펠렛을 만든다. IR 스펙트럼은 FT-IR spectrophotometer (Perkin Elmer, S100, Netehrlands)를 이용하여 분석한다.

3. 결과 및 고찰

3.1 감압 점착제의 특성에 따른 약물 투과에 미치는 영향

지금까지 많은 연구 결과에 의하면 손톱의 화학적 구성성분은 피부의 각질층처럼 친지질 막보다는 친수성 막과 같은 특성을 더 많이 보인다 (Mertin and Lippold, 1997; Walters and Flynn., 1983; Walters et al., 1983; Walters et al., 1985). 감압 점착제의 물리화학적 성질에 따른 terbinafine 의 투과율을 비교/평가하기 위해, 다양한 반응기 그룹을 갖는 아크릴계열 감압 점착제, silicone, styrene-isoprene-styrene (SIS), polyisobutylene (PIB) 그리고 styrene butadiene styrene (SBS)를 사용한다. 약물이 통과하는 투과 장벽으로 돼지 발톱을 이용하며, 20 일간 발톱 투과 실험을 진행한다. 그리고 각각의 패치로부터 발톱을 투과한 약물 투과 누적량을 평가하였다. 모든 패치의 terbinafine 함유 % 비율은 감압 점착제의 고형분 중량 대비 10% (w/w)를 함유한다. Table 1 은 여러 종류의 감압 점착제 매트릭스로부터 돼지 발톱 막을 가로지르는 terbinafine 투과 누적량을 보여준다. 비아크릴 계열의 매트릭스 중에서는 silicone, PIB, SIS, SBS 순서로 많은 누적량을 확인할 수 있었고, 아크릴 계열의 매트릭스 중에서는 반응기 그룹의 종류에 따라 -OH, None, -COOH, -COOH/-OH 그룹 순서로 많은 누적량을 확인할 수 있었다. 약물 분자의 막 투과 경향은 약물의 열역학적 활성도와 감압 점착제의 물리화학적 구조에 영향을 받을 수 있다 (Chedgzoy et al., 2002; Cho and Choi, 1998; Guyot and Fawaz, 2000). Fig 4 는 여러 종류의 감압 점착제에서의 20 일 동안 투과 누적 약물량과 발톱 내 잔류 약물량 사이의 상관관계를 본 결과, 결정계수 R^2 값은 0.0353 이므로 상관관계를 확인할 수 없었다.

3.2. 첨가 약물%에 따른 약물 투과에 미치는 영향

Table 2는 감압 점착제 선정 단계에서 구분 지었던 반응기 그룹 중 높은 투과 누적량을 나타낸 감압 점착제를 선정하고 약물 농도에 따른 약물 투과량을 비교하기 위하여 두 가지 다른 (w/w) %의 약물을 실험하였다. 발톱 투과 실험 결과로 20일 동안의 투과된 약물 누적량과 발톱 내 잔류하는 약물량을 비교하였다. 감압 점착제 선별 단계 후 비아크릴 계열의 감압 점착제 중에서는 silicone이 가장 높은 약물 투과량을 보였으나 강한 점착력 때문에 패치 제거 후 발톱에 잔류하는 점착제의 양이 높은 문제점을 보여 두번째로 높은 약물 투과량을 보인 PIB를 선택하였다. 아크릴 계열의 감압 점착제에서는 점착제의 기능기 종류마다 가장 높은 약물 투과 누적량을 보인 감압 점착제인 87-4098 (None), 87-2516 (-OH), 87-2852 (-COOH), 87-2979 (-COOH/-OH)를 선정하였다. 첨가 약물의 농도가 10 %에서 15 %로 증가하였을 때 모든 종류의 패치에서 약물의 재결정화는 일어나지 않았다. 20 일간 투과 실험 결과 첨가 약물의 농도가 증가한 경우 투과된 약물 누적량과 발톱 잔류 약물량 또한 증가함을 보였다. 이 결과는 발톱 내 약물 축적에 영향을 미치는 중요한 요인으로써 발톱 내의 케라틴에 대한 terbinafine의 친화도 이론을 지지한다 (Vejnovic et al., 2010a; Vejnovic et al., 2010b). 또한 발톱 장벽을 통과하는 약물의 투과는 매트릭스로부터의 약물의 용출, 발톱 안으로의 분배, 발톱 장벽을 가로지르는 확산계수, 이 세 가지 요인에 영향을 받는다 (Murdan, 2002). 발톱 장벽 안으로의 확산이 일어나는 경향은 점착제 내부에서 또는 발톱 내부에서의 약물 용해되는 정도와 열역학적 활성도에 의해 좌우된다 (Myoung and Choi, 2003).

Fig 5에서 보면 20 일 동안 투과된 약물 누적량과 발톱 내 약물잔류량 간의 결정

계수 R^2값은 0.0478이었다. 따라서 두 변수 간의 상관관계를 확인할 수 없었다. 그리고 감압 점착제 간의 투과된 약물 누적량과 약물 잔류량 사이의 결정 계수를 계산해 본 결과 PIB와 87-2516 (R^2 = 0.917, Fig6)의 결정 계수 값이 가장 컸으며 강한 큰 상관관계를 가진다. 다음으로 PIB와 87-4098 (R^2 = 0.851), 87-2516과 87-4098 (R^2 = 0.797) 순서로 큰 상관관계를 함을 확인할 수 있었다. 그 외의 다른 감압 점착제 사이에서는 낮은 상관관계를 보였다.

3.3. 투과 장벽의 특성에 따른 약물 투과에 미치는 영향

인체의 외부를 둘러싸고 있는 투과 장벽 역할을 하는 부위는 피부와 발톱이 있다. 보고된 정보로는, 손발톱은 피부보다 두껍고 (0.25 ~ 0.6 mm) 불투명하며, 단단하지만 수분이 흡수되면 탄력성을 나타낸다. 그리고 ≤ 1 % (w/w)의 낮은 지질 함량을 가지며 대략 25 층의 촘촘하게 쌓여있는 죽은 케라틴 막으로 구성되어 있다. 반면에 피부는 10-20 μm의 얇은 막으로 매우 신축성이 있고 10 % (w/w) 이상의 높은 지질 함량을 가진다 (Gupchup GV and Zatz JL, 1999; Hao J and Li SK, 2008; Murdan, 2002). 이와 같은 두 장벽의 구성 성분 및 물리화학적 특성이 달라서 약물의 투과 양상에도 차이가 발생할 수 있기 때문에 투과도를 비교해보기 위해 감압 점착제 선별 단계에서 사용하였던 감압 점착제 중 10종류를 선택하여 실험을 진행하였다. 이전 점착제 선별 단계에서 발톱을 투과 장벽으로 하였을 때 아크릴계 감압 점착제에서의 약물 투과양상은 기능기 그룹이 -OH, None, -COOH, -COOH/-OH 순서로 많은 투과 누적량 순서를 나타냈지만, 피부를 투과 장벽으로 사용하였을 때는 None, -COOH/-OH, -COOH, -OH 순서로 나타났다. 발톱에서는 -OH

기능기를 갖은 감압 점착제가 투과 누적량이 좋았으나 피부에서는 이 경우 투과 누적량이 현저히 감소하였다. 이는 투과 장벽의 물리화학적 특성 또한 감압 점착제에서 용출되어 나오는 약물의 투과 경향에 영향을 미치는 것을 알 수 있다. Fig 7 (a)은 발톱을 투과한 약물 누적량 (x 축)과 피부를 투과한 누적 약물량 (y 축) 사이의 결정 계수 R^2 값은 0.080으로 두 변수 간의 상관관계를 확인할 수 없었다. 그러나 Fig 7 (b)은 아크릴계 점착제를 이용한 피부와 발톱의 누적량를 비교하여 결정 계수를 구해본 결과 R^2 값은 0.397이며 이 또한 상관관계를 확인할 수 없었다.

3.4. 다양한 투과 촉진제 첨가에 따른 약물 투과에 미치는 영향

발톱을 통한 약물 전달 시스템 개발을 위해서는 약물 투과량 증가를 위하여 적절한 투과 촉진제 선택이 매우 중요하다. 투과 촉진제는 가소제로서 점착제 매트릭스 안에서 약물의 운동성을 증가시키는 역할을 한다 (Myoung and Choi, 2003). 또한 손발톱에 존재하는 단백질 간의 물리적·화학적 결합을 약화시키며 특히 케라틴의 안정성에 영향을 주고 손발톱 장벽을 불안정하게 만들어 약물 분자의 투과를 원활하게 한다. 케라틴에는 화학적인 투과촉진제의 잠재적인 공격 대상이 되는 펩타이드, 수소결합, 극성결합, 이황화 결합이 존재한다고 보고되어있다 (Wang and Sun, 1998). 돼지발톱을 이용하여 약물 투과율을 증가시킨다고 보고된 투과 촉진제 사용에 따른 약물 투과량 증진 효과를 비교하였다. 아크릴계 감압 점착제 87-2516과 비아크릴계 감압 점착제 PIB가 포함된 matrix에 공통적으로 약물과 투과 촉진제는 점착제 건조중량 대비 15 % (w/w)와 5 % (w/w)에 해당하는 양을 첨가하였다.

PIB 의 경우 salicylic acid 를 첨가하였을 때 약물의 결정 형성이 발견되어서 다음 실험에서 제외시키고 나머지 11 종류의 투과 촉진제를 사용하여 약물의 발톱

투과 실험을 진행하였다. Table 3 은 PIB 매트릭스에 첨가한 투과 촉진제의 영향에 따른 enhancement ratio 값을 보여준다. Labrasol®을 제외하고는 전반적으로 약물 투과 증진 효과를 확인할 수 있었고 이 중에서도 PPG 400, Triacetin, Propylene glycol, Transcutol®, Labrafil® 1944, NMP, DMSO 을 사용하였을 때 높은 약물 투과 증진 효과를 나타냈다. 이 또한 20 일 동안 투과 실험을 진행 후 발톱에 잔류하는 약물량을 추출하여 확인하였고, 실험에 사용한 투과 촉진제 중에서 triacetin 을 함유한 패치를 붙인 발톱이 가장 높은 약물잔류량을 나타내었다. 20 일 동안 투과된 약물 누적량과 잔류 약물량 사이의 결정 계수를 분석한 결과 R^2 값 (Fig 9)은 0.0008 이었고 두 변수 간의 상관관계를 확인할 수 없다.

다음으로 DuroTek® 87-2516 의 경우 패치를 제조 후 약물의 결정화는 일어나지 않았다. Table 4 는 다양한 투과 촉진제 첨가에 따른 enhancement ratio 값을 보여준다. 감압 점착제 PIB 를 사용할 때와 비슷한 경향을 나타내었고 Labrasol®을 제외한 나머지 투과 촉진제의 경우 control group 에 비해 높은 enhancement ratio 값을 나타냈다. 이 중에서도 PEG 200, NMP, Hexylene glycol 을 첨가한 패치에서 다른 투과 촉진제의 경우에 비해 높은 enhancement ratio 값을 보였다. 투과 촉진제 중에서 NMP 를 사용하였을 때 공통적으로 높은 enhancement ratio 값을 보였고, 반면에 Labrasol®을 첨가한 패치에서는 공통적으로 control group 에 비해 낮은 enhancement ratio 값을 보였다. 20 일 동안 약물 투과량과 약물잔류량의 결정 계수를 확인해 본 결과 R^2 값 (Fig11)은 0.2949 으로 두 변수 간의 관계를 확인할 수 없었다.

두 종류의 감압점착제를 각각 사용한 패치를 이용하여 20 일 동안 약물 투과 실험 후 enhancement ratio (투과 촉진제 첨가에 따른 투과된 약물 누적량/control group 의 투과된 약물 누적량) 값을 계산하였고 두 종류의 패치에서의 enhancement

ratio 값 간의 결정 계수 R^2 값 (Fig12)은 0.2222 으로 상관관계는 없는 것으로 확인되었다.

3.5. 적외선 분광법 (IR spectroscopy)

다양한 투과 촉진제의 약물 투과 촉진 원리를 이해하기 위해 여러 종류의 투과 촉진제를 각각 처리한 돼지 발톱을 이용하여 케라틴의 구조적 변형을 적외선 분광법으로 확인하였다 (Bendit, 1966a, 1966b).

전 실험에서 선정된 감압 점착제인 PIB 와 DuroTek® 87-2516 에 있어서 다양한 종류의 투과 촉진제를 선택하여 패치를 제조 후 20 일 동안 약물투과실험을 진행하였다. Control 그룹과 투과 촉진제 그룹에 있어 투과된 약물 누적량을 비교하였을 때 enhancement ratio 값이 컸던 Polypropylene glycol 400, Propylene glycol, Polyethylene glycol 200 그리고 NMP 를 선택하고, 약물 투과 실험 후 발톱 내 잔류하는 약물량이 많았던 Mercaptoethanol, Hexylene glycol, Triacetin, Transcutol 을 선택하여 1 주 동안 투과 촉진제 : 탈이온수 (1 : 1, v:v) 혼합용액에 담가 두었다가 꺼내었다. Fig 11 은 발톱의 건조 전이다. Mercaptoethanol 과 Transcutol 을 제외한 대부분 발톱에서는 투과 촉진제를 처리하여도 외형상 크게 변형이 발생하지 않았다. Sulfhydryl 그룹을 가진 Mercaptoethanol 을 처리한 발톱은 dorsal nail plate 부분이 녹은 것처럼 하얗게 변하였다. Transcutol 을 처리한 발톱은 발톱 형태가 고무처럼 말랑말랑하며 상당히 잘 휘어지는 것을 보였다.

일반적으로 케라틴 단백질 간의 결합 IR spectrum에 있어서 보여지는 peak는 N-H 신축 (amide A)은 3300cm^{-1}, C=O 신축 (amide I)은 1600~1690cm^{-}

^{1}사이에서, N-H 변형 (amide Ⅱ)은 1480~1575cm^{-1}사이에서 C-N 신축 (amide Ⅲ)은 1229-1301cm^{-1}사이에서 각각 확인할 수 있다(Kong and Yu, 2007).

Fig 15과 Fig 16은 enhancement ratio 값이 높았던 투과 촉진제와 실험 후 발톱 잔류 약물량이 많았던 투과 촉진제를 선정하여 1 주 동안 투과 촉진제 혼합 용액에 담가 둔 후 FT-IR spectrum을 측정하였다. 투과 촉진제가 처리되지 않은 발톱에서는 단백질의 N-H 신축결합 (amide A) 파수가 3405cm^{-1}에서 보였고 투과 촉진제를 처리한 발톱에서는 파수의 이동을 확인할 수 있었다. 파수의 이동은 케라틴 내의 N-H 신축 결합 (amide A)을 하는 나선 구조의 변형 때문에 발생한다. 케라틴의 나선 구조는 3300cm^{-1}보다 높은 파수를 나타내지만 비나선 구조는 대략 3290cm^{-1}을 나타낸다 (Oertel, 1977). 따라서 NMP와 PPG400는 나선 구조를 형성하는 N-H 신축 결합 (amide A)이 더 강하게 결합하도록 도와줌으로써 높은 파수를 나타내고, 나머지 투과 촉진제는 결합 부분을 약화시키는 반응을 일으켜 나선 구조에서 느슨한 비나선 구조로 변형시킴으로써 흡수 파수가 낮아진다.

다음으로 500~550cm^{-1} 부근에서 확인되는 이황화 S-S 신축결합 파수를 비교해보고자 한다 (Gniadecka M et al., 1998; Surewicz et al., 1993). 이황화 S-S 신축 결합은 가장 일반적인 gauche-gauche-gauche (~510cm^{-1}) , 덜 안정적인 gauche-gauche-trans (~525cm^{-1})와 trans-gauche-trans (~540cm^{-1}) 총 3가지의 배치 방식을 갖고 있다 (Gniadecka M et al., 1998). 투과 촉진제가 처리가 된 발톱 단백질의 시스틴 결합이 절단되는 반응 단계는 Nail-S-S-Nail + R-SH → 2Nail-SH + R-S-S-R이다 (Murdan, 2002). 이 절단 반응을 유발하는 투과 촉진제는 sulfhydryl 기능기를 가지고 있으며 대표적으로는 Mercaptoethanol과

Acetylcystine이 있다. 발톱을 구성하는 단백질 사이의 절단은 케라틴 구조를 불안정하게 만듦으로써 약물 분자의 투과를 향상하게 시킨다 (Bragulla and Homberger, 2009; Murdan, 2002).

이황화 S-S 결합 부분을 비교해보기 위해 스펙트럼을 보았을 때 투과 촉진제가 처리되지 않은 발톱에서는 500cm^{-1} ~ 550cm^{-1}사이에 무수한 파수가 존재하는 것이 확인되며, 반면에 투과 촉진제가 처리된 발톱에서는 Transcutol과 Hexylene glycol을 제외하고는 나머지의 투과 촉진제는 H^+을 제공함으로써 S-S 결합을 환원시키는 원인으로 결합이 끊어져 파수가 보이지 않는다 (Ahn et al., 2009).

결론적으로, 적외선 스펙트럼 결과는 투과 촉진제가 케라틴의 구조에 형태적 변형을 일으키는 것으로 보였다. 하지만 약물 투과증진 효과와 케라틴 구조 변형의 상관관계에 대한 이해를 위해서는 추가 연구가 요구된다.

4. 결 론

이 논문의 연구는 약물전달 패치의 일종인 DIA 시스템에 관한 연구이다. DIA 시스템은 제조 공정이 단순하고, 또한 제조 비용이 적게 요구되기 때문에 경제적으로 효율성이 높다. 이 시스템을 이용하여 항진균 약물인 terbinafine을 조판 내부에 잔류시키고 조판을 투과하여 조상까지 전달함으로써 조갑진균증 감염 치료에 요구되는 약물 농도를 유지할 수 있었다. 그러나 피부 각질과는 달리 지질 함량이 현저히 낮고 수십 겹으로 쌓인 각화 세포층으로 구성된 손발톱을 투과하여 약물을 전달하여 치료하는 것은 여전히 도전적인 과제이다.

여러 종류의 점착제를 사용하였고, 비아크릴계 점착제에서는 PIB, 아크릴계 점착제에서는 기능기에 따라 None 그룹의 87-4098, -OH 그룹의 87-2516, -COOH 그룹의 87-2852, -COOH/-OH 그룹의 87-2979를 선정하였고, 각각의 점착제에 약물의 함유량을 증가시켰을 때 투과된 약물 누적량이 증가였다. 다음으로 투과촉진제 첨가 효과에 대한 실험을 진행하기 위해 비아크릴계 점착제 PIB와 아크릴계 점착제 중 투과된 약물 누적량이 많았던 -OH 기능기를 갖는 87-2516을 선정하였다. 투과량 증가 효과를 나타낸 투과 촉진제의 종류가 점착제에 따라 달랐지만, NMP를 사용하였을 때 좋은 효과를 나타냈다. 적외선 분광법을 이용하여 케라틴 구조에 영향을 미치는 투과 촉진제의 영향에 대해 알아보기 위해 분석을 하였다 N-H 신축결합 (amide A)를 나타내는 파수를 비교해보았고, 파수의 증가 및 감소는 나선 구조를 형성하는 결합이 주변의 영향을 받아 비나선 또는 나선 구조로 변하면서 발생한다. 그리고 케라틴의 시스틴 결합이 환원반응을 거쳐 끊어지기 때문에 500~550cm^{-1}에 존재하는 파수를 없애버린다.

지금까지의 실험에서 투과된 약물 누적량과 케라틴 구조의 변형 간의 관계를 설명하기는 다소 부족한 면이 있다. 따라서 투과 촉진제의 작용 기전 등 잘 알려지지 않은 요인에 관한 추가 연구를 진행할 필요성이 있다.

5. 참고 문헌

Ahn, S.-I., Eom, S., Kim, Y.-K., Kim, Y.-T., Jung, S.-H., Kim, D.-S., Lee, J.-H., Park, J.-H., Kim, W., Yang, J.-C., Rhee, J.-M., Khang, G., 2009. Enhancement of the Drug Permeability by the Nail Swelling. Tissue Engineering and Regenerative Medicine 6, 104-111.

Alberti, I., Kalia, Y.N., Naik, A., Bonny, J.-D., Guy, R.H., 2001a. Assessment and Prediction of the Cutaneous Bioavailability of Topical Terbinafine, In Vivo, in Man. Pharmaceutical Research 18, 1472-1475.

Alberti, I., Kalia, Y.N., Naik, A., Bonny, J.-D., Guy, R.H., 2001b. Effect of ethanol and isopropyl myristate on the availability of topical terbinafine in human stratum corneum, in vivo. International journal of pharmaceutics 219, 11-19.

Alberti, I., Kalia, Y.N., Naik, A., Bonny, J.-D., Guy, R.H., 2001c. In vivo assessment of enhanced topical delivery of terbinafine to human stratum corneum. Journal of Controlled Release 71, 319-327.

Amichai, B.M., Grunwald, M.H., 1998. Adverse drug reactions of the new oral antifungal agents - terbinafine, fluconazole, and itraconazole. International Journal of Dermatology 37, 410-415.

Baran, R., Kaoukhov, A., 2005. Topical antifungal drugs for the treatment of onychomycosis: an overview of current strategies for monotherapy and combination therapy. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology 19, 21-29.

Bendit, E.G., 1966a. Infrared absorption spectrum of keratin. I. Spectra of α-,

β-, and supercontracted keratin. Biopolymers 4, 539-559.

Bendit, E.G., 1966b. Infrared absorption spectrum of keratin. II. Deuteration studies. Biopolymers 4, 561-577.

Bohn, M., Kraemer, K.T., 2000. Dermatopharmacology of ciclopirox nail lacquer topical solution 8% in the treatment of onychomycosis. Journal of the American Academy of Dermatology 43, S57-S69.

Bragulla, H.H., Homberger, D.G., 2009. Structure and functions of keratin proteins in simple, stratified, keratinized and cornified epithelia. Journal of anatomy 214, 516-559.

Brown, M.B., Khengar, R.H., Turner, R.B., Forbes, B., Traynor, M.J., Evans, C.R.G., Jones, S.A., 2009. Overcoming the nail barrier: A systematic investigation of ungual chemical penetration enhancement. International journal of pharmaceutics 370, 61-67.

Chedgzoy, P., Winckle, G., Heard, C.M., 2002. Triclosan: release from transdermal adhesive formulations and in vitro permeation across human epidermal membranes. International journal of pharmaceutics 235, 229-236.

Cho, Y.J., Choi, H.K., 1998. Enhancement of percutaneous absorption of ketoprofen: effect of vehicles and adhesive matrix. International journal of pharmaceutics 169, 95-104.

Clayton, Y.M., 1994. Relevance of broad-spectrum and fungicidal activity of antifungals in the treatment of dermatomycoses. British journal of dermatology 130, 7-8.

Darkes M.J.M., Scott L.J., Goa K.L., 2003. Terbinafine: a review of its use in

onychomycosis in adults. American journal of clinical dermatology 4, 39.

Debruyne, D., Coquerel, A., 2001. Pharmacokinetics of Antifungal Agents in Onychomycoses. Clinical Pharmacokinetics 40, 441-472.

Ghannoum, M.A., Hajjeh, R.A., Scher, R., Konnikov, N., Gupta, A.K., Summerbell, R., Sullivan, S., Daniel, R., Krusinski, P., Fleckman, P., Rich, P., Odom, R., Aly, R., Pariser, D., Zaiac, M., Rebell, G., Lesher, J., Gerlach, B., Ponce-de-Leon b, G.F., Ghannoum a, A., Warner, J., Isham, N., Elewski, B., 2000. A large-scale North American study of fungal isolates from nails: The frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns. Journal of the American Academy of Dermatology 43, 641-648.

Gniadecka M, Faurskov Nielsen O, Christensen DH, HC., W., 1998. Structure of water, proteins, and lipids in intact human skin, hair, and nail. Journal of Investigative Dermatology 110, 393-398.

Gupchup GV, Zatz JL, 1999. Structural characteristics and permeability properties of the human nail: A review. Journal of cosmetic science 50, 363-385

Gupta, A.K., Shear, N.H., 1997. Terbinafine: An update. Journal of the American Academy of Dermatology 37, 979-988.

Guyot, M., Fawaz, F., 2000. Design and in vitro evaluation of adhesive matrix for transdermal delivery of propranolol. International journal of pharmaceutics 204, 171-182.

Hao J, Li SK, 2008. Transungual iontophoretic transport of polar neutral and positively charged model permeants: Effects of electrophoresis and electroosmosis. Journal of pharmaceutical sciences 97, 893-905.

Kong, J., Yu, S., 2007. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. Acta Biochimica et Biophysica Sinica 39, 549.

Lee KH, Chun SI, Cho BK, Ahn KJ, Jun JB, Park KB, Sim WY, Lee KS, Kim KJ, Kye YC, Suh KS, HJ., Y., 1993. Efficacy of oral terbinafine the treatment of onychomycosis. 대한피부과학회지 31, 567.

Mertin, D., Lippold, B.C., 1997. In vitro Permeability of the Human Nail and of a Keratin Membrane from Bovine Hooves: Influence of the Partition Coefficient Octanol/Water and the Water Solubility of Drugs on their Permeability and Maximum Flux. Journal of Pharmacy and Pharmacology 49, 30-34.

Murdan, S., 2002. Drug delivery to the nail following topical application. International journal of pharmaceutics 236, 1-26.

Myoung, Y., Choi, H.-K., 2003. Permeation of ciclopirox across porcine hoof membrane: effect of pressure sensitive adhesives and vehicles. European Journal of Pharmaceutical Sciences 20, 319-325.

Niewerth, M., Korting, H.C., 1999. Management of Onychomycoses. Drugs 58, 283-296.

Novartis, 1993. PRESCRIBING INFORMATION, LAMISIL(terbinafine hydrochloride), antifungal agent. no.107515, Dorval.

Oertel, R.P., 1977. Protein conformational changes induced in human stratum corneum by organic sulfoxides: an infrared spectroscopic investigation. Biopolymers 16, 2329-2345.

Oh, B.H., Ahn, K.J., 2009. Drug Therapy of Dermatophytosis. J Korean Med Assoc 52, 1109-1114.

Pittrof F, Gerhards J, Erni W, Klecak G, 1992. Loceryl® nail lacquer—realization of a new galenical approach to onychomycosis therapy. Clinical and experimental dermatology 17, 26.

Ryder, N.S., 1992. Terbinafine: Mode of action and properties of the squalene epoxidase inhibition. British journal of dermatology 126, 2-7.

Sachdeva, V., Siddoju, S., Yu, Y.-Y., Kim, H.D., Friden, P.M., Banga, A.K., 2010. Transdermal iontophoretic delivery of terbinafine hydrochloride: Quantitation of drug levels in stratum corneum and underlying skin. International journal of pharmaceutics 388, 24-31.

Scher, R.K., 1994. Onychomycosis is more than a cosmetic problem. British journal of dermatology 130, 15-15.

Suh MK, 2001. Treatment and Prophylaxis of Onychomycosis. . Korean Journal of Medical Mycology 6, 140-142.

Surewicz, W.K., Mantsch, H.H., Chapman, D., 1993. Determination of protein secondary structure by Fourier transform infrared spectroscopy: A critical assessment. Biochemistry 32, 389-394.

Vejnovic, I., Huonder, C., Betz, G., 2010a. Permeation studies of novel terbinafine formulations containing hydrophobins through human nails in vitro. International journal of pharmaceutics 397, 67-76.

Vejnovic, I., Simmler, L., Betz, G., 2010b. Investigation of different formulations for drug delivery through the nail plate. International journal of pharmaceutics 386, 185-194.

Walters, K., Flynn., G., 1983. Permeability characteristics of the human nail plate.

International journal of cosmetic science 5, 231-246.

Walters, K.A., Abdalghafor, H.M., Lane, M.E., 2012. The human nail - Barrier characterisation and permeation enhancement. International journal of pharmaceutics 435, 10-21.

Walters, K.A., Flynn., G., Marvel, J.R., 1983. Physicochemical characterization of the human nail: permeation pattern for water and the homologous alcohols and differences with respect to the stratum corneum*. Journal of Pharmacy and Pharmacology 35, 28.

Walters, K.A., Flynn., G., Marvel, J.R., 1985. Physicochemical characterization of the human nail: solvent effects on the permeation of homologous alcohols*. Journal of Pharmacy and Pharmacology 37, 771.

Wang, J.C.T., Sun, Y., 1998. Human nail and its topical treatment : brief review of current research and development of topical antifungal drug delivery for onychomycosis treatment. Journal of cosmetic science 71-76.

아인스피부과, 2012. 항진균제의 종류, http://blog.naver.com/bluemoon52/100163850233.

Table 1. Terbinafine flux from the patches containing 10% w/w drug load with respect to dry polymer weight, after the study period of 20 days. Values are expressed as mean± standard deviation. (n=3)

PSA	Cumulative amount permeated up to 20 days (μg/cm^2)
Silicone	7.27 ± 0.36
PIB	5.30 ± 0.12
SBS	3.26 ± 0.97
SIS	2.50 ± 0.17
DuroTak®87-9301 (None)	3.47 ± 0.12
DuroTak®87-4098 (None)	3.54 ± 0.54
DuroTak®87-2510 (-OH)	4.78 ± 0.49
DuroTak®87-2516 (-OH)	4.83 ± 0.38
DuroTak®87-502B (-OH)	4.49 ± 0.26
DuroTak®87-504B (-OH)	4.28 ± 0.24
DuroTak®87-2054 (-COOH)	3.01 ± 0.18
DuroTak®87-2852 (-COOH)	3.60 ± 0.46
DuroTak®87-2074 (-COOH/-OH)	3.16 ± 0.25
DuroTak®87-2979(-COOH/-OH)	3.41 ± 0.32

Table 2. Terbinafine flux from the patches containing different drug load with respect to dry polymer weight, after the study period of 20 days. Values are expressed as mean± standard deviation. (n=3)

Formulations	Drug load (%)	Cumulative amount permeated up to 20 days (μg/cm^2)
PIB	10	6.619±0.032
	15	8.724±0.342
DuroTak®87-4098(None)	10	3.476±0.157
	15	5.302±0.314
DuroTak®87-2516(-OH)	10	4.203±0.074
	15	5.511±0.305
DuroTak®87-2852(-COOH)	10	3.699±0.197
	15	4.850±0.209
DuroTak®87-2979(-COOH/-OH)	10	3.489±0.171
	15	4.543±0.304

Table 2. Remaining terbinafine in the nail after permeation experiment at various level of drug loading from PIB and DuroTak® 87-2516, 87-4098, 87-2852, 87-2979 matrix. Values are expressed as mean± standard deviation. (n=3)

Formulations	Drug load (%)	Amount of terbinafine remained in the nail (μg/g)
PIB	10	0.816±0.069
	15	1.304±0.127
DuroTak®87-4098(None)	10	0.608±0.166
	15	0.899±0.079
DuroTak®87-2516(-OH)	10	0.632±0.048
	15	0.795±0.086
DuroTak®87-2852(-COOH)	10	0.934±0.142
	15	1.059±0.317
DuroTak®87-2979(-COOH/-OH)	10	1.281±0.236
	15	1.553±0.301

Table 3. Enhancement ratio of terbinafine flux from the patches containing 15% w/w drug load and 5% v/w enhancers, with respect to dry polymer weight, in PIB matrix after the study period of 20 days. (n=3)

enhancer	Enhancement ratio*
Control	1.00
Labrasol®	0.84
PEG 200	1.08
Triacetin	1.15
Propylene glycol	1.16
Transcutol®	1.10
Labrafil® 1944	1.10
Salicylic acid	–
NMP	1.12
DMSO	1.10
Hexylene glycol	1.07
PPG 400	1.21
Mercaptoethanol	1.03

*Enhancement ratio = Flux with enhancer / Flux without enhancer

Table 4. Enhancement ratio of terbinafine flux from the patches containing 15% w/w drug load and 5% v/w enhancers, with respect to dry polymer weight, in DuroTak® 87-2516 matrix after the study period of 20 days. (n=3)

enhancer	Enhancement ratio*
Control	1.00
Labrasol®	0.90
PEG 200	1.24
Triacetin	1.02
Propylene glycol	1.05
Transcutol®	1.02
Labrafil® 1944	1.02
Salicylic acid	1.06
NMP	1.17
DMSO	1.09
Hexylene glycol	1.16
PPG 400	1.09
Mercaptoethanol	1.03

*Enhancement ratio = Flux with enhancer / Flux without enhancer

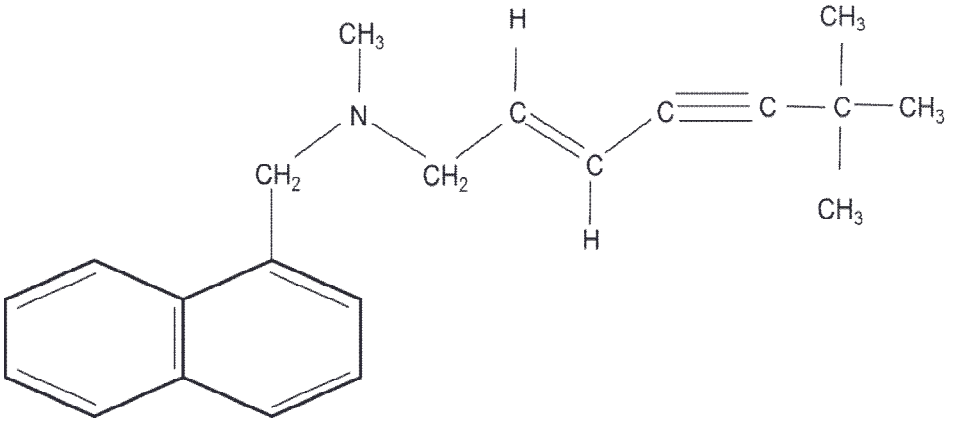

Figure 1. Chemical structure of terbinafine base(Sachdeva et al., 2010).

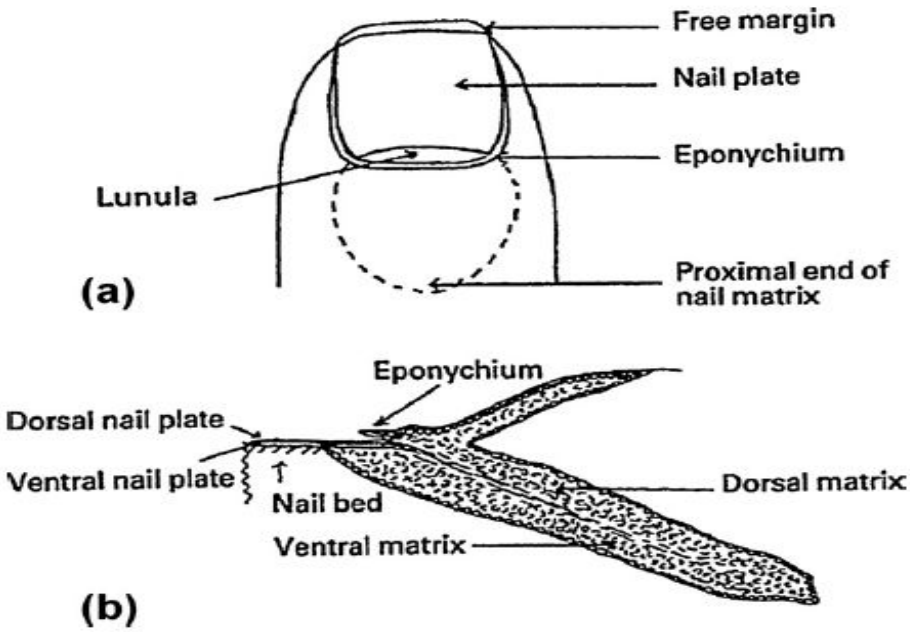

Figure 2. Feature of the human nail plate(Walters et al., 2012)

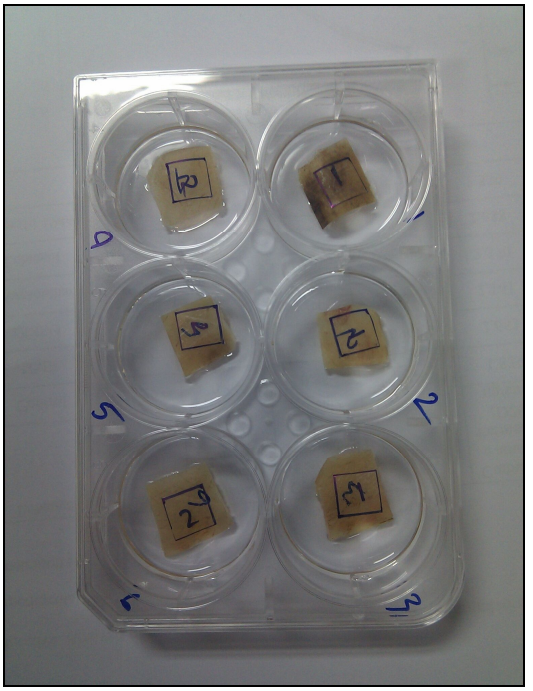

Figure 3. Typical set up of nail penetration study chamber.

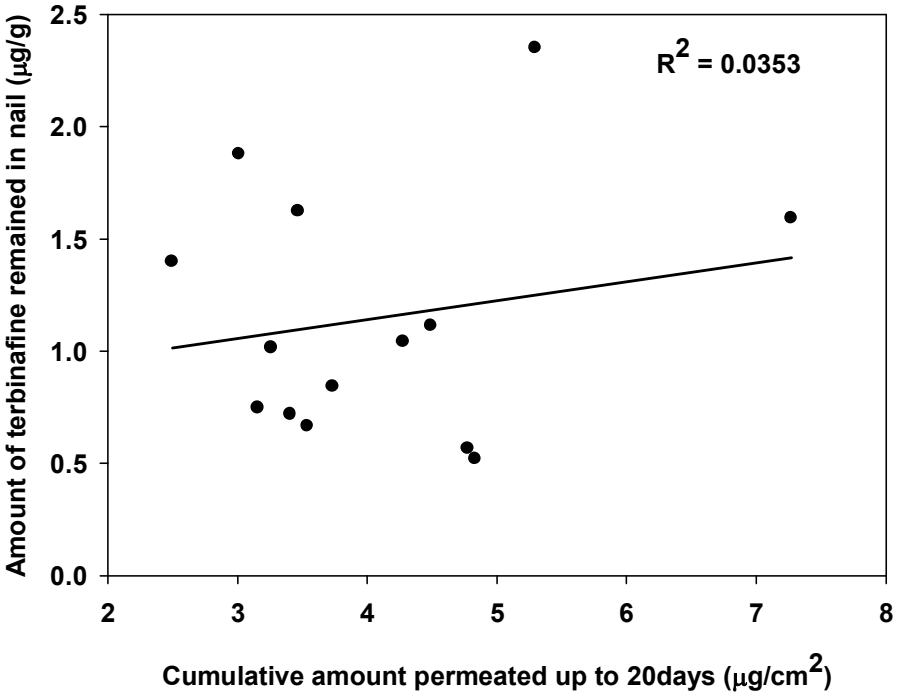

Figure 4. Correlation between cumulative amounts penetrated up to 20 days from various adhesive matrixes at 10 % w/w drug loading and remaining terbinafine in the nail. (n=3)

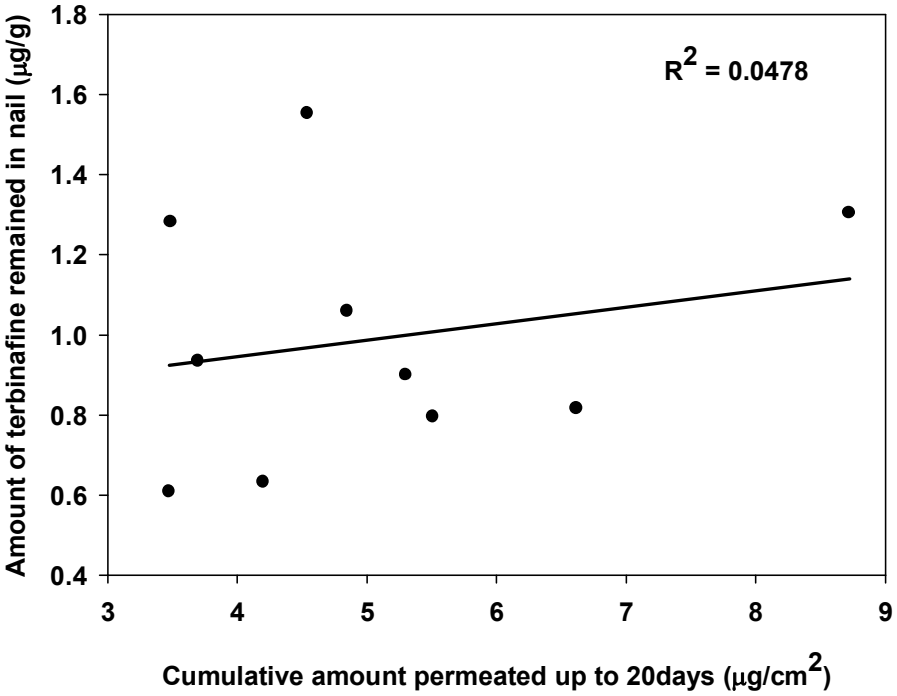

Figure 5. Correlation between cumulative amounts penetrated at 20 days from various PSA matrix at 10 and 15 % w/w drug loading and remaining terbin afine in the nail. (n=3)

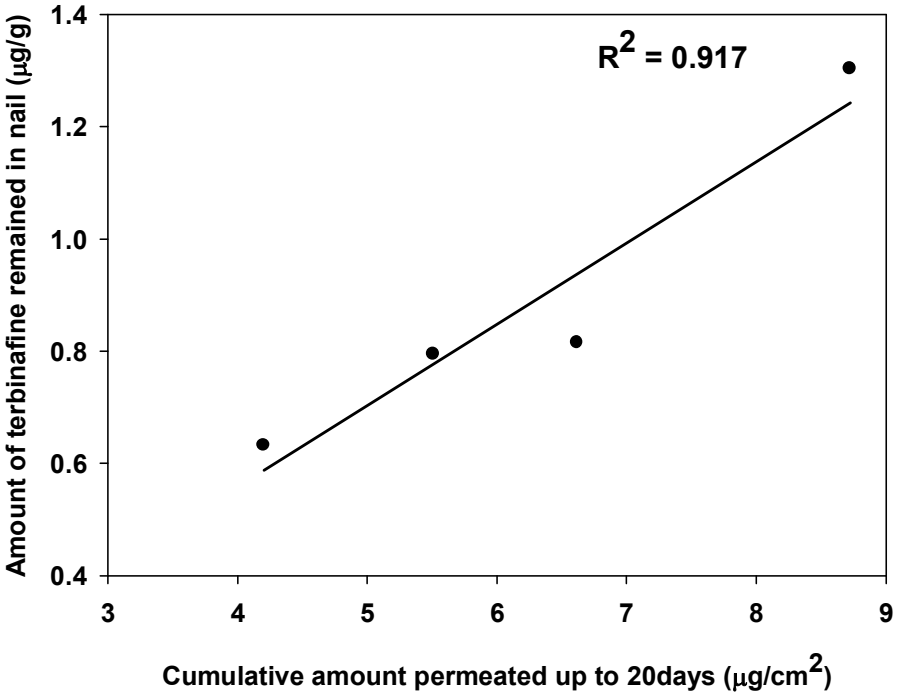

Figure 6. Correlation between cumulative amounts penetrated at 20 days from PIB and DuroTak® 87-2516 matrix at 10 and 15 % w/w drug loading and remaining terbinafine in the nail. (n=3)

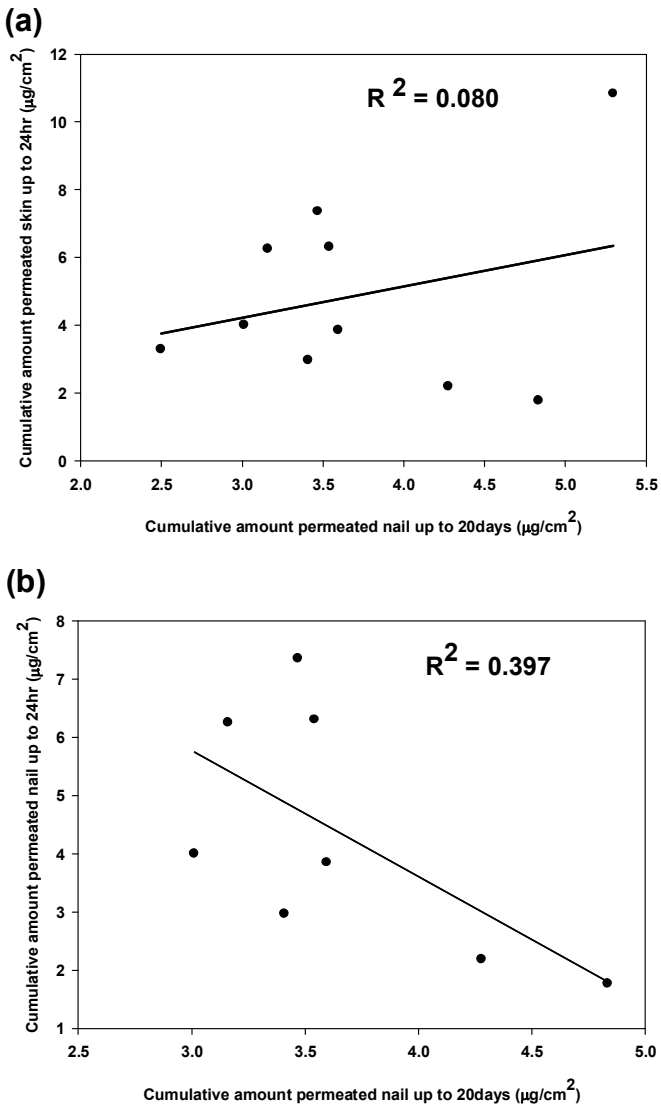

Figure 7. Correlation between cumulative amounts penetrated up to 20 days from adhesive matrix at 10 % w/w drug loading using nail membrane and cumulative amounts permeated across hairless mouse skin from 10% w/w drug loading. (n=3)

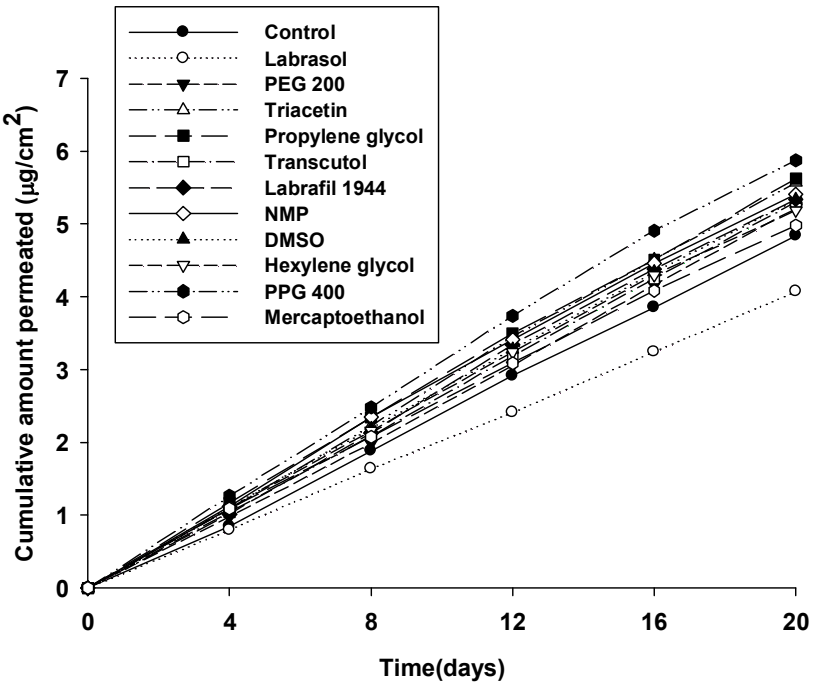

Figure 8. Effect of various enhancers on the permeation of terbinafine in PIB matrix, at 15% w/w drug load and 5% v/w enhancers for 20 days. (n=3)

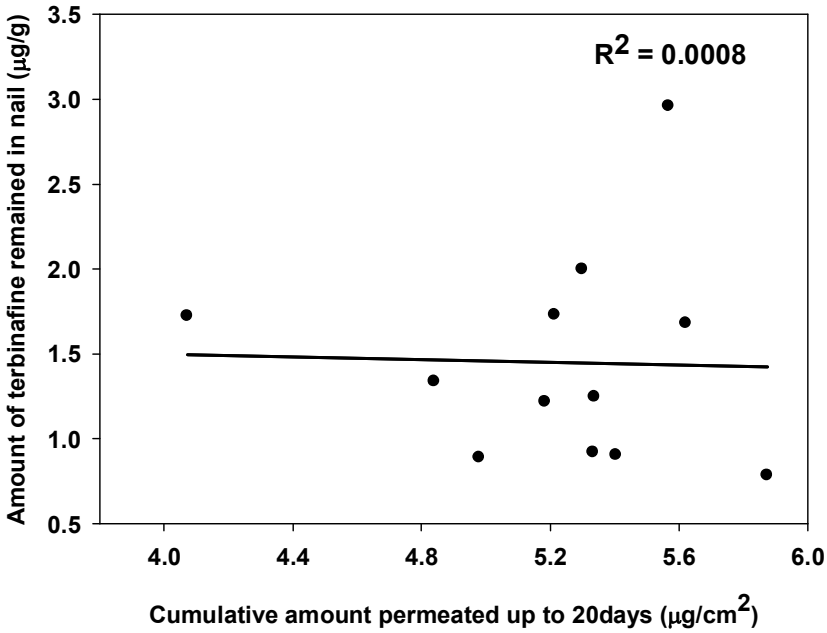

Figure 9. Correlation between cumulative amounts penetrated at 20 days from PIB matrix at 5% v/w enhancer loading and remaining terbinafine in the nail. (n=3)

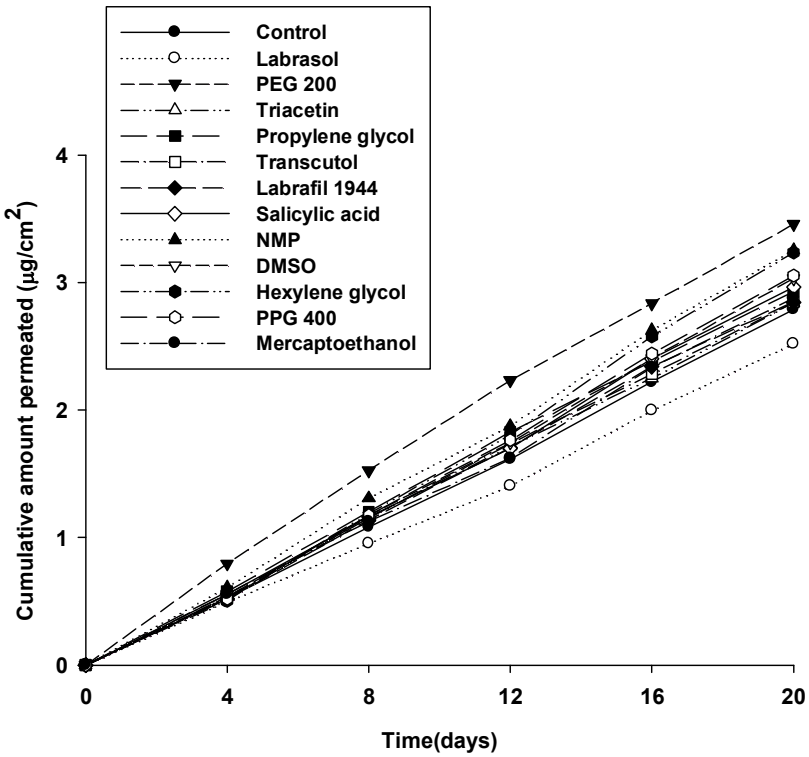

Figure 10. Effect of various enhancers on the permeation of terbinafine in DuroTak® 87-2516 PSA matrix, at 15% drug load and 5% v/w enhancers for 20 days. (n=3)

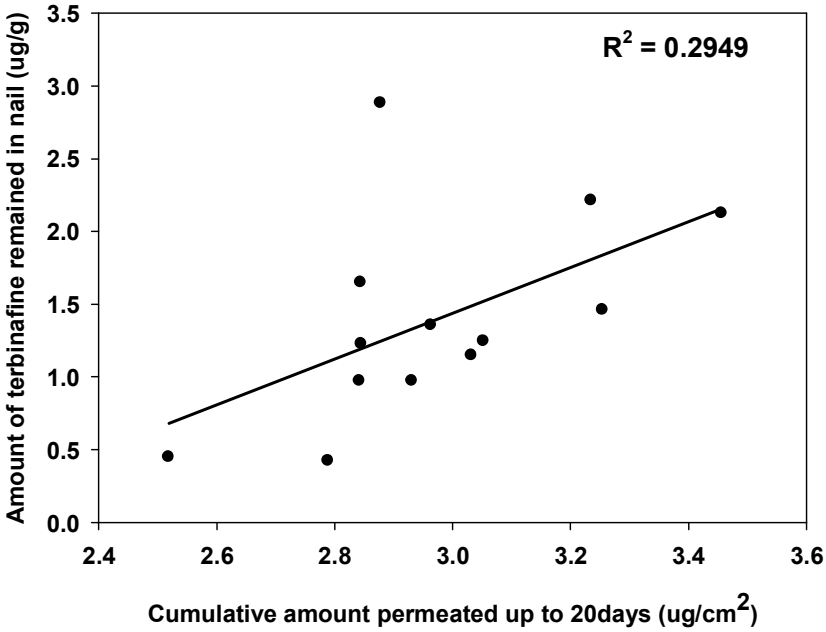

Figure 11. Correlation between cumulative amounts penetrated at 20 days from DuroTak® 87-2516 PSA matrix at 5% v/w enhancer loading and remaining terbinafine in the nail. (n=3)

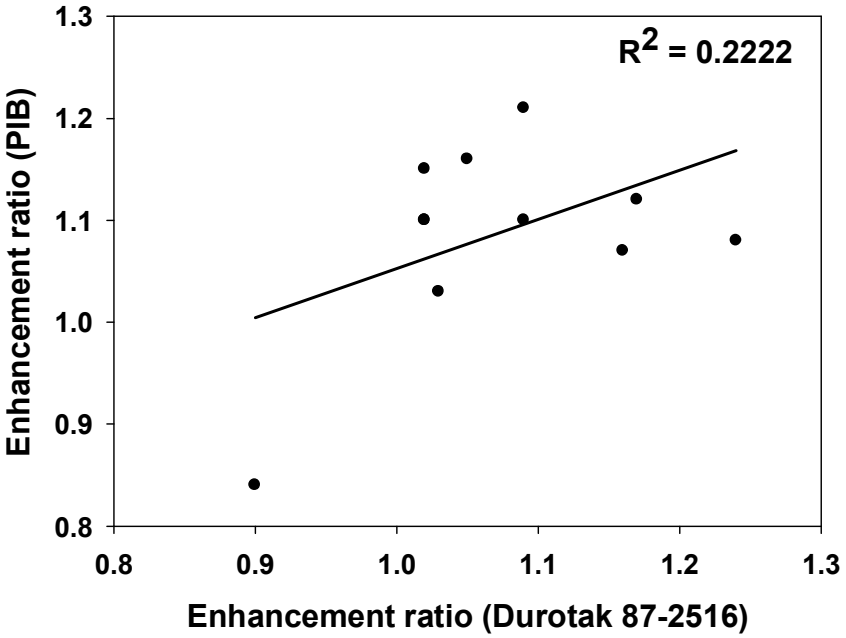

Figure 12. Correlation between enhancement ratio from PIB and DuroTak® 87-2516 matrix at 15% w/w drug loading and 5% w/w enhancer loading.

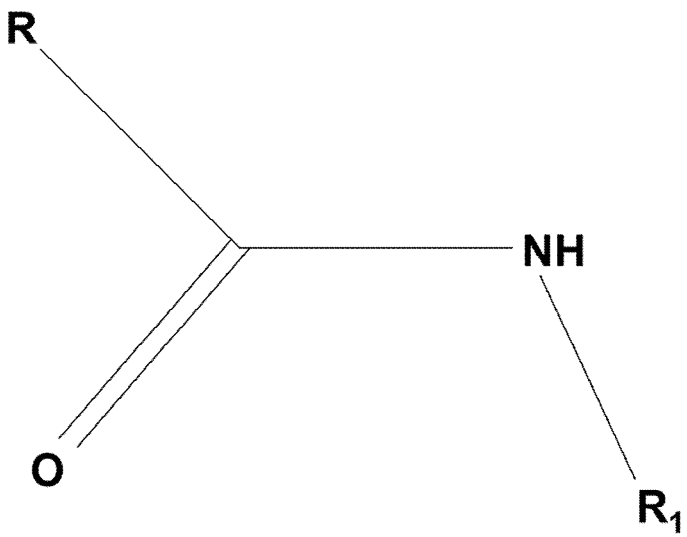

Figure 13. Peptide bond in protein(Walters et al., 2012)

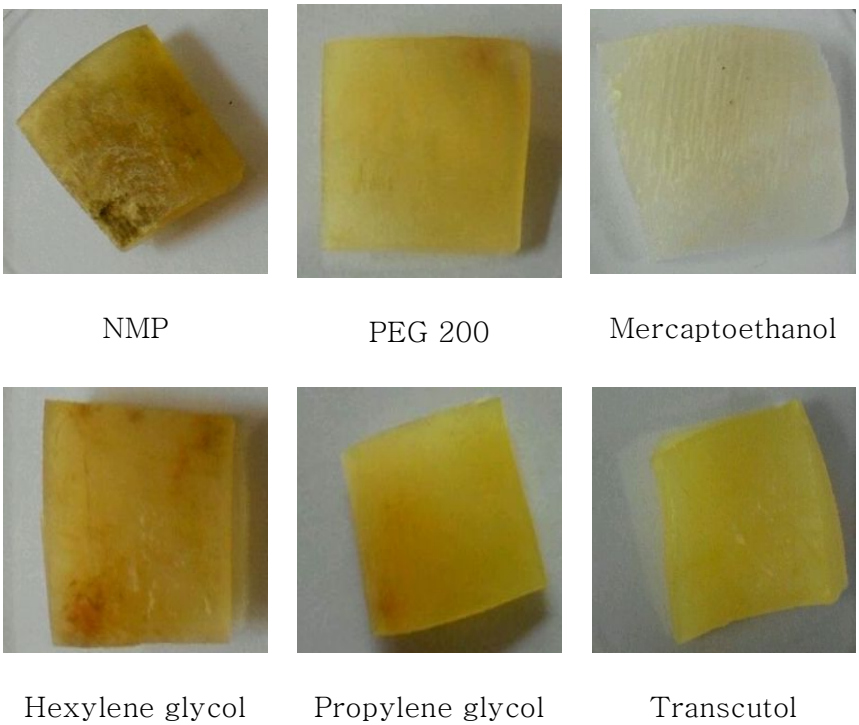

Figure 14. Appearance of porcine hoof soaked within aqueous enhancer mixture solution for 1 week.

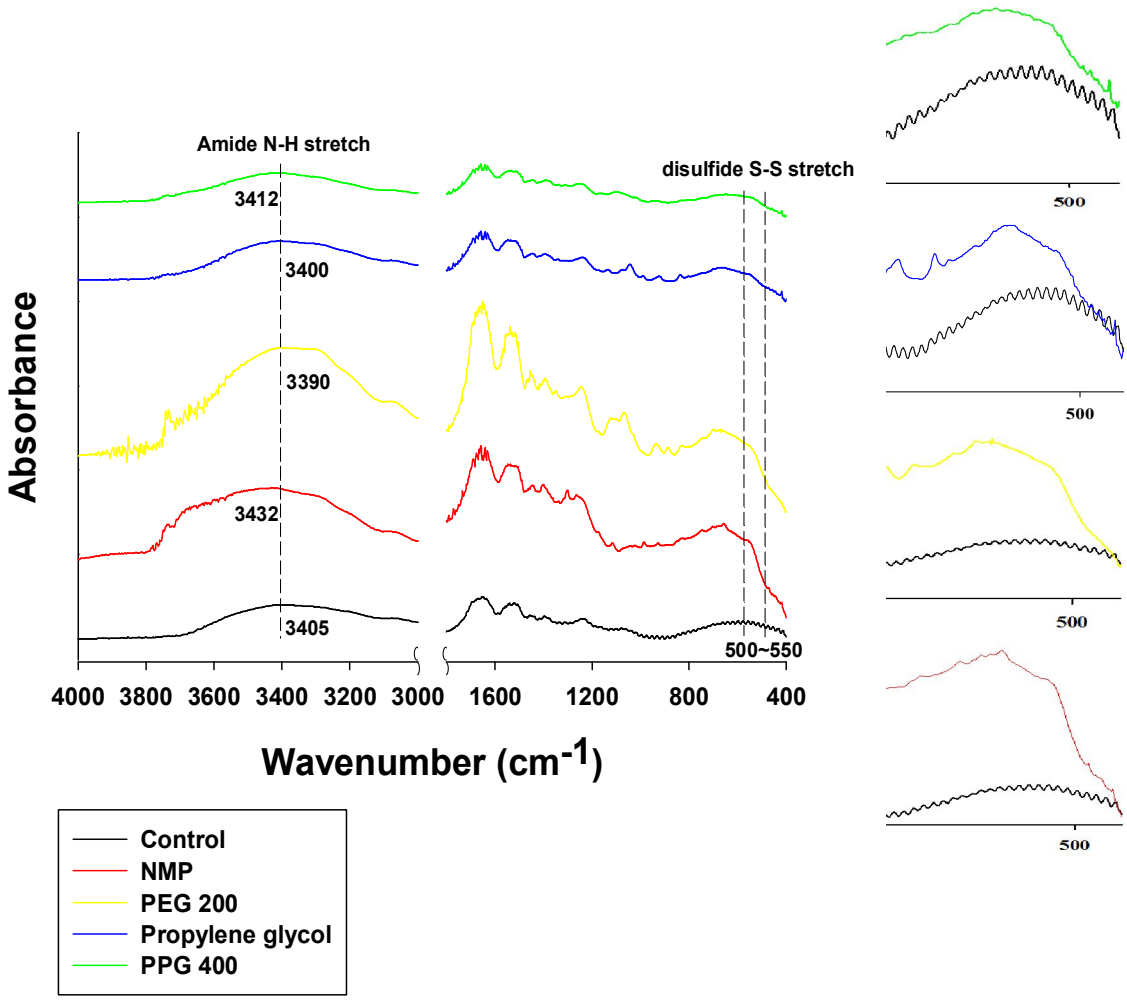

Figure 15. Infrared spectra of porcine hoof treated with various enhancers. (High value of enhancement ratio)

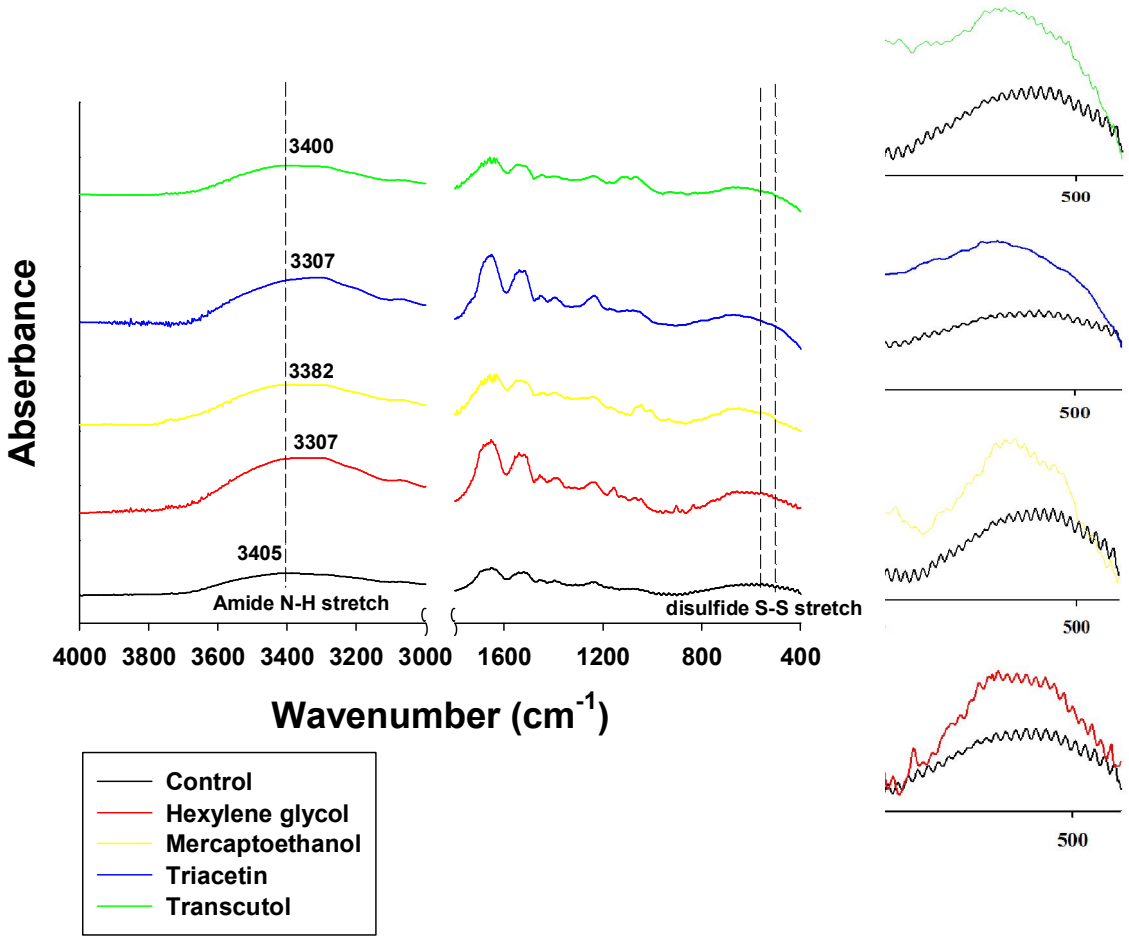

Figure 16. Infrared spectra of porcine hoof treated with various enhancers. (High amount of terbinafine remaining in nail)

감사의 글

2011년 1월 들뜬 마음으로 물리약학 실험실에 들어오는 순간이 마치 어제와 같습니다. 사실 나에게는 졸업이 허락되지 않을 것이라 생각했는데, 많은 일들을 겪어보니 졸업의 문턱에 오게 되었습니다. 대학원 기간 동안 여러 사람들과 부딪치면서 나의 부족한 점을 알게 되었고, 많은 것들을 배울 수 있는 기간이었습니다. 아직 제대로 된 사회를 만난 것은 아니지만 더 큰 사회로 나가는 길에 여기서 배우고 느꼈던 일들이 큰 보탬이 될 것이라 생각됩니다.

우선 제가 지금까지 올 수 있도록 지지해주신 모든 분들께 감사하다는 말을 먼저 하고 싶습니다. 매번 시킨 일도 제대로 하나 못한 저를 받아주시고, 거침없는 조언으로 지도해주신 최후균 교수님께 진심으로 감사 드리며, 한편으로는 죄송스럽습니다. 그리고 회사 일도 바쁘신 와중에도 토요일마다 실험실에 오셔서 버틸 수 있는 조언을 해주시고 많은 것들을 챙겨주신 전명관 박사님께도 감사 드립니다.

먼저 졸업한 친구 준형이에게도 고맙다는 말을 하고 싶습니다. 내가 처음 왔을 때 옆 실험실 누나, 형들과 잘 지낼 수 있도록 나를 끌어주고, 내가 어려운 일이 생기면 많은 조언을 해준 것, 그때는 제대로 고맙다는 말을 못했던 것 같다는 생각이 많이 듭니다. 그리고 일년 동안 내 옆에서 먹는 것도 챙겨주고, 고민도 들어준 현정이 누나에게도 고맙다는 말하고 싶습니다. 끝까지 포기하지 않고 졸업을 위해 함께 달려온 동료 탁심에게도 고맙다는 말을 하고 싶습니다. 마지막으로 말 주변이 제대로 없는 나에게

친근하게 다가와준 실험실 동료 은영, 경주, 수지에게 고맙다는 말을 하고 싶습니다.

끝까지 뒷바라지 해주시느라 고생하신 부모님께 감사하다는 말씀 드리고 싶습니다.