

Ethosomes의 포집효율과 입자크기에 영향을 주는 인자에 관한 연구

진병석[†], 이상목, 이광희*

동덕여자대학교 응용화학과, *인하대학교 나노시스템 공학부

(2005년 10월 10일 접수, 2006년 3월 22일 채택)

A Study on the Factors Affecting Entrapment Efficiency and Particle Size of Ethosomes

Byung Suk Jin[†], Sang Mook Lee, and Kwang Hee Lee*

Department of Applied Chemistry, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

*Nano System Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

(Received October 10, 2005; accepted March 22, 2006)

Ethosome은 에탄올에 용해된 레시틴을 친수성 용액으로 수화시켜 만들어지는 액정형 베시클이다. Ethosome을 약물전달체로 개발하기 위해서는 베시클의 높은 포집효율과 작은 입자크기가 필수적이기 때문에 ethosome의 포집효율과 입자크기에 영향을 주는 인자들에 대한 연구를 시도하였다. Calcein을 친수성 지표물질로 사용하여 ethosome을 만들고, 구성 성분비와 제조조건에 따른 ethosome의 특성의 변화를 관찰하였다. 에탄올과 calcein 용액의 첨가량, 레시틴 중 포스파티딜콜린의 함량, 제조온도, 교반속도 및 PBS 첨가방법 등이 ethosome의 특성에 상당히 큰 영향을 미치는 것을 확인하였다. 초음파 처리를 한 경우에는 ethosome의 포집효율이 감소하는 결과가 나타났는데 이러한 결과는 강한 초음파 진동에 의해 베시클에 포집되었던 성분이 방출되었기 때문이다.

Ethosome is a liquid crystalline vesicle prepared by hydration of ethanol-dissolved lecithin with a solution containing hydrophilic components. Investigation of factors affecting the entrapment efficiency and particle size of ethosomes was carried out, because the high entrapment efficiency and small particle size are prerequisite in developing ethosomes as a drug delivery system. The variations of properties of ethosomes with constituent composition and preparation method were examined using a calcein as a hydrophilic marker. It was observed that the amount of ethanol and calcein solution, phosphatidyl choline content in lecithin, preparation temperature, stirring rate, and PBS addition method had a considerable effect on the properties of ethosome. Sonication treatment resulted in the reduction of entrapment efficiency of ethosome, which was due to the release of entrapped components in the vesicles by strong sonication vibration.

Keywords: ethosome, hydrated liquid crystalline vesicle, entrapment efficiency, particle size, lecithin

1. 서 론

약물이나 화장품 성분 등의 유효성분을 리포솜과 같이 지질 이중층으로 구성된 베시클(vesicle)에 포집(entrapment)시켜 피부투과를 용이하게 하는 전달체계에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다[1]. 리포솜은 생체막의 주요성분인 인지질로 만들어지기 때문에 생체 친화적이며 수용성 또는 지용성 약물 모두를 리포솜 내로 포집할 수 있는 등 많은 장점으로 인하여 경피 투과 전달체로 많은 각광을 받아왔다. 하지만 제형의 안정성, 극히 낮은 포집효율 등의 문제를 안고 있고 또한 일반 리포솜은 정상적인 피부(intact skin)에서는 깊숙하게 침투가 어려워 효과가 제한적인 경우도 많았다.

리포솜의 피부투과를 높이기 위해 기존의 리포솜을 변형한 새로운 형태의 베시클 개발이 이어졌는데 베시클 막이 gel 상태보다 liquid 상

태에서 피부각질층을 더욱 잘 투과할 수 있는 점을 고려해서 더 유연하면서 탄력적(elastic)으로 변형이 쉬운 상태의 베시클을 만들려는 시도가 이루어졌다[2,3]. 그 예로 transfersome, deformable liposome, ethosome 등이 개발되었다. Transfersome은 기존의 리포솜에 일명 edge activator라고 일컬어지는 sodium cholate와 같은 계면활성제나 lysophosphatidyl choline과 같은 단일사슬 인지질을 적당한 양으로 혼합하여 만들어지는데 이 경우 리포솜은 극단적 변형(ultr deformation)이 가능하여 각질층의 아주 작은 틈 사이로 침투 이동이 더욱 효과적으로 이루어지는 것으로 보고 있다[4-9]. Deformable liposome은 유효 특성을 갖는 dipotassium glycyrrhizinate (KG)을 레시틴에 혼합하여 만들어지는데, 일반 리포솜에 비해 베시클 입자의 탄력적인 변형이 뛰어나고 피부침투도 3~4배 정도 우수하다는 결과를 Trotta 등 [10,11]이 보고하였다. Ethosome은 피부투과 증진제로 흔히 쓰이는 에탄올에 인지질을 용해시켜서 만들어지는 베시클인데 여기서 에탄올

[†] 주 저자 (e-mail: bsjin@dongduk.ac.kr)

은 베시클 막의 계면장력을 낮추고 또한 각질층과 베시클 막의 유연성을 동시에 증가시키는 역할을 하는 것으로 보고 있다[12-14]. Touitou 등[12]은 ethosome이라는 명칭을 처음 사용하고 높은 포집효율과 뛰어난 피부투과 효과를 입증하였지만 그 이전에도 Perrett 등[15]은 proliposome이란 명칭으로 에탄올을 사용하여 리포솜을 쉽게 제조하는 방법을 소개하였고, Kirjavainen 등[16]은 인지질이 에탄올에 용해된 상태로 리포솜을 만들면 피부투과속도가 증가한다는 결과를 발표하였다. 본 연구진 또한 ethosome의 기본적 고찰을 위해 성분 구성 및 온도 변화에 따른 액정의 상거동(phase behavior)을 조사하면서 ethosome이 인지질, 에탄올, 물로 구성된 수화 액정형 베시클(hydrated liquid crystalline vesicle)임을 확인하였다[17].

본 연구에서는 높은 포집효율과 작은 입자크기를 갖는 ethosome을 제조하고자 ethosome의 포집효율 및 입자크기에 영향을 미치는 요인들에 관하여 면밀한 관찰을 시도하였다. Ethosome의 구성 성분 및 조성비, 제조 조건 및 방법 등을 달리하여 제조된 베시클의 특성변화를 살펴보고 수화 액정형 베시클 형성에 미치는 요인들을 분석하여 최적의 ethosome 제조에 필요한 조건들을 제시하였다.

2. 실험

2.1. 사용 재료

본 연구에서 사용한 인지질은 수소첨가반응을 통해 불포화 성분을 없앤 레시틴으로 포스파티딜콜린(PC) 성분이 95% 이상 들어있는 Emulmetik 950 (Lucas Meyer)을 주로 사용하였다. 레시틴 중 PC성분의 함량에 따른 ethosome의 특성을 살펴보기 위하여 PC함량이 75% 이상 들어있는 S75-3 (Lipoid), 70% 이상 들어있는 HPL (두산 바이오텍)을 각각 사용하였다. 레시틴 종류를 구분하기 위하여 편의상 명칭을 HPC (hydrogenated phosphatidyl choline)로 표기하고 뒤에 PC 함량%를 숫자로 나타내었다. 이들은 불포화 지방산이 포함된 레시틴에 비해 산화안정성이 좋고 탈색, 탈취 효과도 있어 장기 안정성이 요구되는 화장품 원료로 많이 사용된다.

Cholesterol (Ch), calcein과 Triton X-100 모두 Sigma 제품을 구입하여 사용하였고 sephadex도 Sigma제품의 G-50 (medium)을 사용하였다. 에탄올은 EP급 (Daejung Chem.) 시약을 사용하였다. Calcein은 수용액의 pH에 따라 형광 강도가 변하기 때문에 일정한 pH를 유지하기 위해서 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) 용액을 만들어 사용하였다. Membrane filter는 0.45 μm 의 기공크기를 사용하였다.

2.2. Ethosome 제조

앞서 발표한 논문[17]에서의 제조 방법을 좀 더 개선하여 다음과 같은 과정으로 ethosome을 제조하였다. 레시틴(또는 혼합 지질들) 1 g과 에탄올 1 mL를 플라스크에 넣고 저온의 냉각수가 흐르는 콘덴서(condenser)를 플라스크 입구에 연결한 후 플라스크를 60 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도가 유지되는 항온조에 가져간다. 레시틴이 에탄올에 용해되어 투명한 상태의 용액이 된 상태에서 첫 단계로 calcein 수용액(농도 3 mg/mL) 1 mL를 넣고 3 min 이상 자석교반 시키면 수화 액정(hydrated liquid crystal)이 형성된다. 다음 단계로 교반기 속도를 최고(약 1100 rpm)로 유지시킨 상태에서 정량용액 펌프를 이용하여 PBS용액 60 mL를 약 5 mL/min의 속도로 한 방울씩 서서히 첨가하면 수화 액정은 수십에서 수백 나노 크기의 베시클 형태의 입자로 분산되게 되는데 이 베시클 입자가 ethosome이다. 항온조에서 위 과정을 총 10 min가량 진행한 후 플라스크를 상온으로 옮겨 약 1 h 정도 자석교반 시키면서 서서

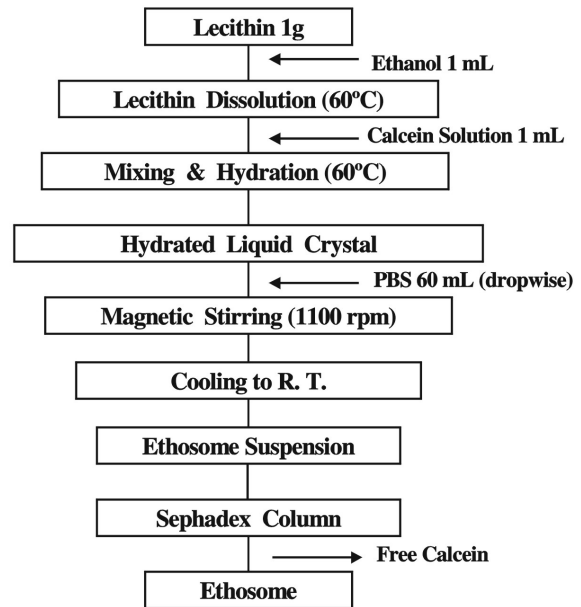


Figure 1. Typical process scheme for the preparation of calcein entrapped ethosome.

히 냉각시킨다. 냉각된 ethosome 현탁액은 sephadex G-50 column에 통과시켜 ethosome에 포집되지 못한 free calcein이 제거된 ethosome 입자를 최종적으로 얻는다. 상기한 제조 방법은 최대의 포집효율과 최소 입자크기를 형성하는 최적의 제조 조건을 기술한 것이고 Figure 1에 전형적인 ethosome 제조과정을 요약하여 나타내었다.

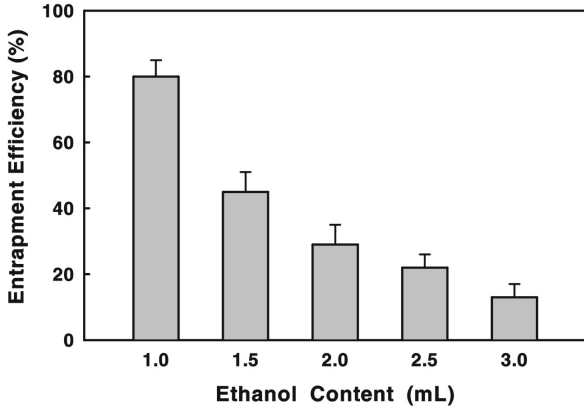
2.3. 사용기기 및 분석

Calcein의 농도는 Varian사의 형광 광도계(Cary Eclipse Model)를 사용하여 분석하였다. Calcein의 흡광파장(excitation wavelength)을 494 nm에 고정하고 후 방출파장(emission wavelength)의 형광세기를 측정하여 농도로 환산하였다. 일정농도 이상에서는 자기소광(self-quenching)이 일어나 오히려 형광세기가 감소하므로 농도 측정 시 자기소광이 일어나기 시작하는 농도 이하로 희석하여 형광세기를 측정하였다. Ethosome 입자의 크기는 레이저 광산란 측정 장치인 PSS사의 Nicomp 380 모델을 사용하여 측정하였고 수 평균 입자크기로 나타내었다. 액정의 열적성질 측정은 TA사의 미분주사열량계(DSC Model 2910)를 사용하였고 전도도 측정은 Orion사 150 모델을 사용하였다. 이 외에도 조음과 기기는 Sonics사의 VC 505 모델을, 자석 교반기는 Corning사의 PC-420 모델을 각각 사용하였다. Ethosome의 포집효율은 ethosome 현탁액을 sephadex G-50 column에 통과시켜 ethosome에 포집되지 못한 free calcein 용액 부분과 ethosome 베시클 입자 부분을 분리한 후, 각 부분의 농도와 부피를 측정하여 아래와 같은 식으로 정의하여 구하였다.

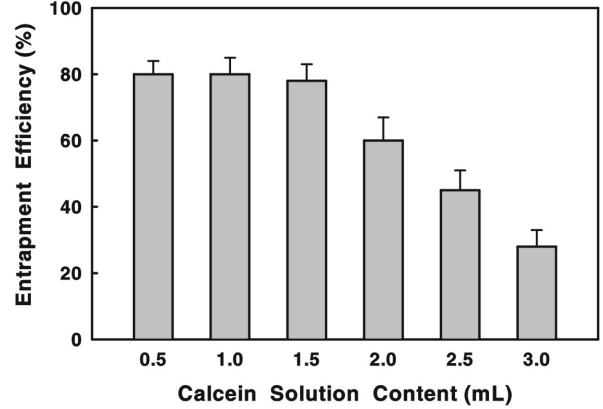
포집 효율(EE, %)

$$= \left(\frac{\text{ethosome에 포집된 calcein의 질량}}{\text{ethosome에 포집된 calcein의 질량} + \text{free calcein의 질량}} \right) \times 100$$

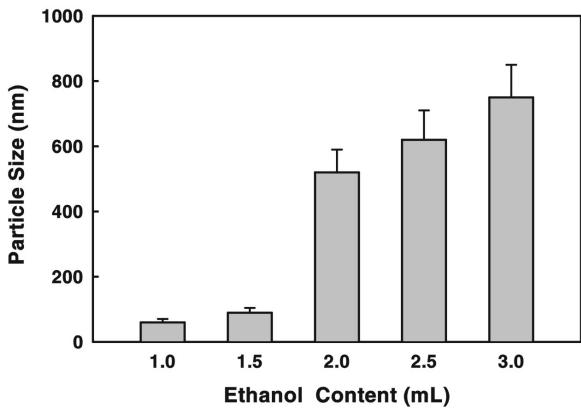
Ethosome에 포집된 calcein 양을 구하기 위해서 분리된 ethosome 입자에 Triton X-100를 넣어 ethosome 베시클을 파괴한 후 membrane filtering을 하고 형광광도계로 농도를 측정하였다.



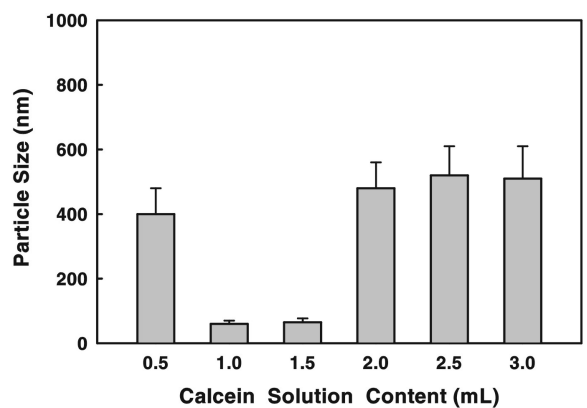
(a)



(a)



(b)



(b)

Figure 2. Effects of ethanol content on the (a) entrapment efficiency and (b) particle size of ethosome.

Figure 3. Effects of calcein solution content on the (a) entrapment efficiency and (b) particle size of ethosome.

3. 결과 및 고찰

베시클의 포집효율 및 입자크기에 영향을 주는 요인을 살펴보기 위해 구성성분의 조성비율, 제조 조건 및 방법 등을 다양하게 변화시켜 가며 ethosome을 제조한 후 각각의 특성변화를 살펴보았다. Figure 2는 레시틴(HPC95 1 g)에 대하여 에탄올 첨가량을 늘려가며 ethosome을 만들었을 때 포집효율과 입자크기 변화를 살펴본 것이다. 60 °C 온도에서 HPC95 1 g을 용해시키기 위해서는 에탄올이 최소한 1 mL 이상 필요한데, 1 mL로부터 시작하여 에탄올 양을 늘려 갈수록 포집효율은 떨어지고 입자크기는 크게 증가하는 현상이 나타났다. 레시틴이 60 °C 에탄올에 용해되어 등방성 유상(isotropic oil phase)을 형성한 상태에서 일정량의 calcein 수용액(수상, water phase)이 첨가되면 등방성 유상의 레시틴 용액은 비용매(non-solvent) 성의 수용액에 의해 분자 간 배열이 일어나면서 비등방성(anisotropic) 액정으로 상전이(phase transition)가 일어난다. 이 과정에서 PC의 극성머리부분(polar head group)의 친수성에 의해 calcein 수용액이 포집된 형태의 수화 액정이 형성된다. 한편 에탄올 용매에 용해된 레시틴은 유방성(lyotropic) 액정의 특성을 지니게 되어 등방성 용액 상태에서 액정 상태로 전이가 일어날 때 용매의 양이 많아질수록 레시틴 분자의 액정 배열이 더욱 어려워지고 배열된 레시틴 분자 간 간격도 느슨해지며 인력이 약해진다. 따라서 에탄올이 많아질수록 레시틴 분자의 약한 인력에 의해 calcein 수용액의 포집효율이 떨어지게 되고 느슨하게 배열된 분자

간격으로 인해 입자크기도 증가하게 된다.

Figure 3은 레시틴 1 g이 에탄올 1 mL에 용해된 상태에서 calcein 수용액 첨가량을 달리하여 ethosome을 만들었을 때 변화를 살펴본 것이다. Calcein 수용액 첨가량을 1.5 mL까지 늘렸을 때 ethosome의 포집효율은 80% 가까이 유지 되지만 그 이상으로 첨가량을 늘리면 포집효율이 비교적 크게 떨어짐을 알 수 있다. Calcein 수용액을 1.5 mL 이하로 첨가할 경우에는 수용액 대부분이 유상의 레시틴 용액에 수화되어 함께 액정을 형성하면서 최종적으로 ethosome 액정 베시클 안에 포집된 상태로 남게 된다. 그러나 2 mL 이상으로 첨가량이 많아지면 레시틴 PC의 극성머리 부분이 수용되지 못해 액정형성에 가담하지 못한 calcein 수용액 양이 많아지면서 포집효율이 떨어지게 된다. 앞서 보고 된 논문[17]에서 calcein 수용액 첨가량에 따른 전도도 변화를 살펴본 바에 따르면 calcein 수용액 첨가량 1과 1.5 mL 사이에서 연속상이 유상에서 수상으로 상 전환(phase inversion)이 일어남을 확인하였다. 두 실험의 결과를 종합해볼 때 1 mL의 에탄올에 용해된 1 g의 레시틴이 포집할 수 있는 calcein 수용액의 최대 양은 상 전환이 일어나기 전후의 약 1~1.5 mL 정도로 예측 된다. Calcein 수용액 첨가량에 따른 입자크기를 살펴보면 상 전환이 일어나는 1~1.5 mL 근방에서는 수십 나노 크기의 아주 작은 입자가 형성되지만 상 전환이 일어나는 조성을 벗어나면 입자가 크게 형성되었다. 유상의 레시틴 용액에 1 mL 이하의 calcein 수용액이 첨가되었을 때는 유상에 수상이 분산된 형태(W/O)의 액정상이 형성되지만 1 mL 이상의 수용액이 첨가되면 상 전

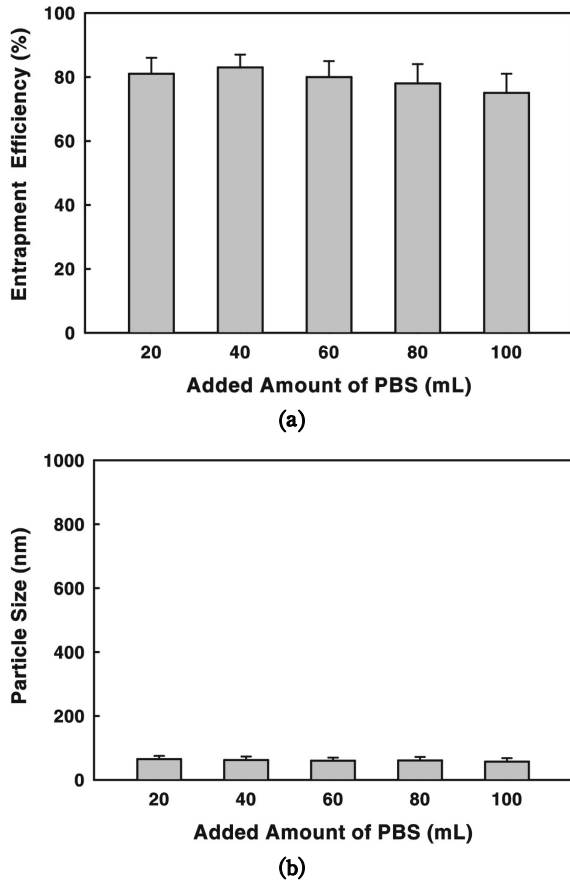


Figure 4. Effects of added amount of PBS on the (a) entrapment efficiency and (b) particle size of ethosome.

환이 일어나면서 bicontinuous구조의 액정상이 형성된다. Bicontinuous 구조의 액정상은 미시적으로 각기 다른 방향성을 갖는 액정 조직 (grain)으로 구성되는데 이런 구조의 액정상에 PBS용액 첨가와 함께 전단력(shear force)이 가해지면 액정상은 보다 용이하게 작은 입자로 분산되리라 생각된다. Calcein 수용액 2 mL 이상이 첨가되면 상구조가 bicontinuous구조에서 분산상(W/O)-연속상(W)구조로 변화되는데 이 구조의 액정상에서는 수십 나노 크기의 입자 분산이 어렵게 된다.

수화액정을 ethosome입자로 분산시킬 때 PBS 첨가량에 따른 변화를 살펴보았다(Figure 4). 본 실험에서 PBS 첨가량을 20 mL에서 100 mL까지 변화시켰을 때 ethosome의 포집효율이나 입자 크기 변화는 관측되지 않았고 따라서 PBS용액은 단순한 분산매 역할로서 ethosome 입자의 특성에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 확인됐다. 하지만 에탄올 첨가량이 많은 경우 또는 ethosome 현탁액에 초음파를 가하거나 fluidizer를 통과시키는 등 강한 전단력이 가해지는 경우에 분산매 양이 너무 적으면 베시클 입자형태로 존재하지 않고 젤(Gel)로 변하는 현상이 나타날 수 있으므로 조성이나 제조조건에 따라서 분산매의 양을 적절하게 조절할 필요가 있다.

Figure 5는 레시틴의 종류 및 콜레스테롤 첨가에 따른 변화를 나타낸 것이다. HPC95 대신 PC의 함량이 낮은 HPC75, HPC70를 사용하였을 때 포집효율이 10% 미만으로 크게 감소하였다. 또한 PC에 비해 소수성이 강한 콜레스테롤을 HPC95에 첨가할수록 포집효율이 감소하였다. 따라서 베시클 입자를 구성하는 성분 중에서 PC 극성성분의 상대적 비율이 베시클 입자의 포집효율에 큰 영향을 끼침을 알 수 있

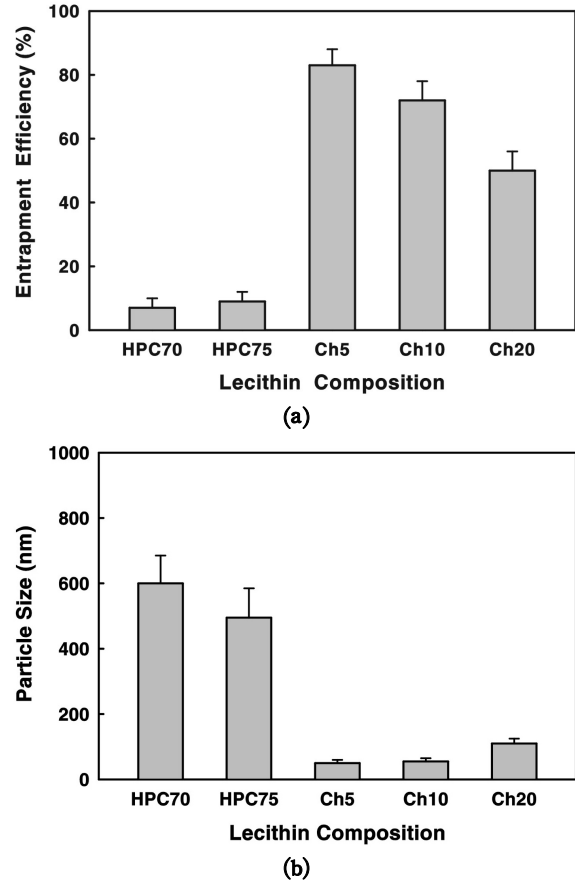


Figure 5. Effects of lecithin composition and cholesterol addition on the (a) entrapment efficiency and (b) particle size of ethosome. Ch20 denotes HPC95/Cholesterol (80/20, w/w).

다. 베시클 입자 크기를 살펴보면 HPC75 또는 HPC70으로 만든 경우 입자가 크게 형성된다. 레시틴 구성성분을 살펴보면 HPC75와 HPC70은 PC이외에 중성지질 같은 다른 성분들이 HPC95에 비해 상대적으로 많이 분포되어 있는데, 이러한 성분들은 PC의 라멜라 형 액정배열에 있어 일종의 불순물로 작용하여 액정배열을 방해하고 조밀하게 배열되지 못하도록 하여 입자가 크게 형성되는 것으로 판단된다. HPC95에 콜레스테롤을 20 wt% 이상으로 혼합한 경우(Ch20), 콜레스테롤도 PC의 액정배열에 불순물로 작용하기 때문에 베시클 입자가 커지는 경향이 있다. 다만 콜레스테롤은 PC와 상용성이 좋고 PC의 배열 층 사이에 위치하여 PC와 서로 얽혀진 이중층(interdigitated bilayer)을 형성하기 때문에 10 wt% 미만의 콜레스테롤 첨가는 베시클의 포집효율이나 입자크기에 크게 영향을 미치지 않았다.

레시틴 중의 PC 함량에 따른 액정배열 성향을 열 분석기를 사용하여 간접적으로 확인할 수 있었다. Figure 6은 에탄올에 용해된 HPC95, HPC75, HPC70 액정 각각을 DSC로 측정된 결과로 등방성 전이(isotropic transition) 온도와 열량을 비교할 때 PC함량이 높을수록 전이온도도 높아지고 상전이에 필요한 열량도 높아지는 경향이 나타났다. 전이온도의 상승은 배열된 액정 성분간 인력이 좀 더 강하게 작용하는 것이고 단위 중량당 전이에 필요한 열량이 증가하는 것은 강한 인력과 더불어 레시틴에서 더 많은 성분이 액정배열을 구성하기 때문이다. 따라서 HPC95가 HPC75, HPC70에 비해 액정배열 성향이 크게 높다는 것을 알 수 있다. 이런 결과는 앞서 Figure 5에서 레시틴 종류

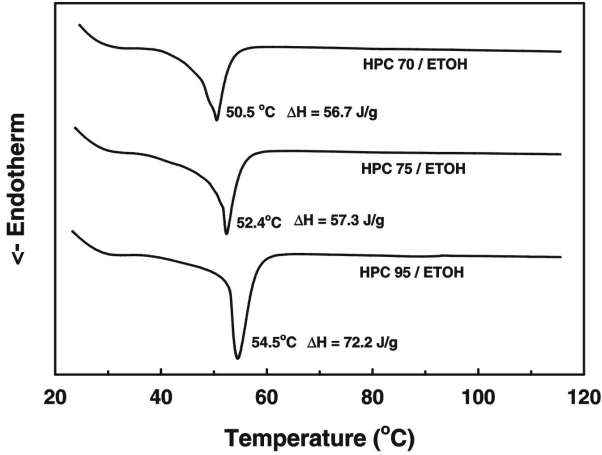
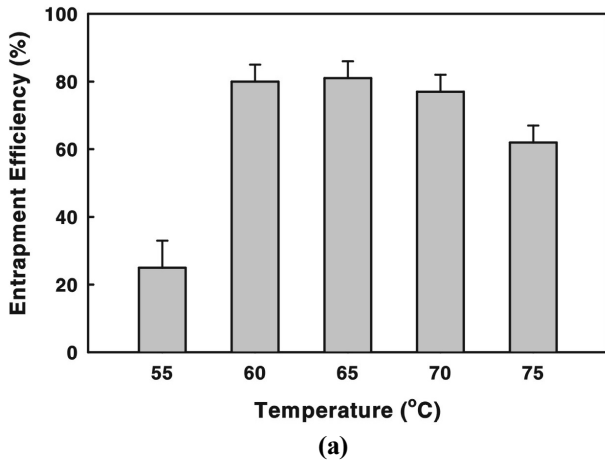
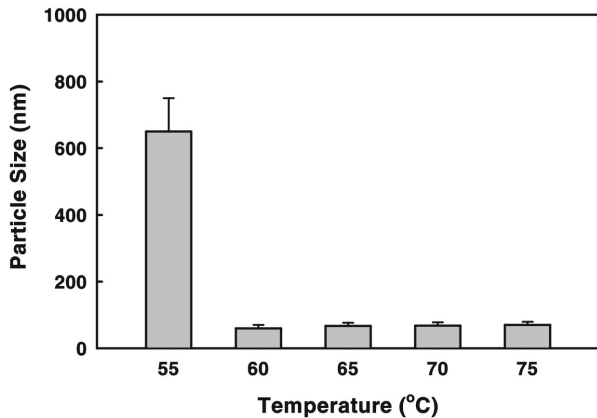


Figure 6. DSC thermograms of various lecithins dissolved in ethanol.



(a)



(b)

Figure 7. Effects of preparation temperature on the (a) entrapment efficiency and (b) particle size of ethosome.

에 따른 포집효율 및 입자크기 변화에 대한 설명을 뒷받침한다. Ethosome입자의 포집효율과 입자크기가 제조온도에 따라서 어떻게 영향을 받는지 살펴보았다(Figure 7). 항온조의 온도를 60 °C 이상으로 하여 ethosome을 제조한 경우 포집효율이나 입자크기에는 별 차이가 없었지만 55 °C로 고정하여 만든 경우 포집효율은 크게 떨어지고

Table 1. Entrapment Efficiency (EE) and Particle Size (PS) of Ethosomes Prepared with Various Methods

Preparation method	EE (%)	PS (nm)
Typical method (as Figure 1)	80 ± 5	68 ± 10
1) Stirring rate : 520 rpm	67 ± 5	490 ± 95
2) Sonication for 5 min	41 ± 6	105 ± 15
3) Sonication for 10 min	25 ± 7	83 ± 15
4) Addition of PBS at once	48 ± 6	230 ± 80
5) Rapid cooling with ice water	79 ± 5	70 ± 10
6) Addition of pure water	-	73 ± 10

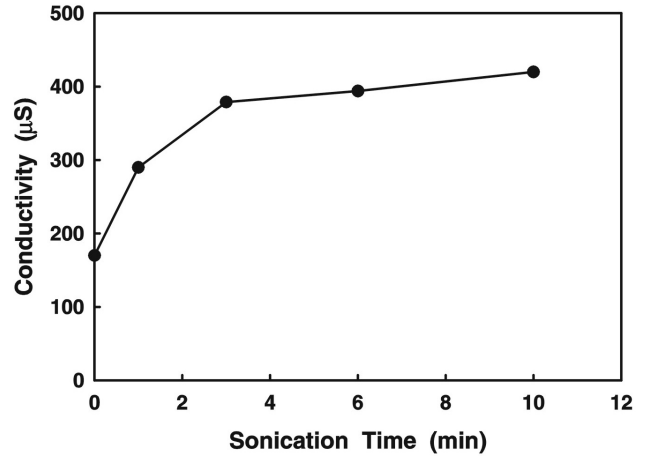


Figure 8. Conductivity change of ethosome suspension with sonication time.

베시클 입자도 상당히 커지는 현상이 나타났다. Figure 6에서 볼 수 있듯이 레시틴 용액은 약 50 °C 이상에서부터 등방성 상태가 되고, 여기에 calcein 수용액을 가하면 유상의 레시틴 용액과 수상의 calcein 용액이 골고루 교반되어지면서 수화 액정상이 만들어진다. 그러나 55 °C 온도에서는 유상과 수상이 혼합된 매질(medium)의 점도가 높아 두 상 간에 교반이 충분히 일어나지 못하고 이에 따라 많은 양의 calcein 수용액이 액정상에 수화되어 포집된 상태로 남지 못하게 되어 포집효율이 떨어지게 된다. 또한 형성된 액정 상 역시 점도가 높고 유동성이 부족하기 때문에 자석교반에서 가해지는 힘으로는 PBS용액 내에서 작고 고른 분포의 입자 형태로 분산이 어렵게 된다. 60 °C 이상의 온도에서는 교반과 입자 분산이 모두 원활하게 진행되지만 온도가 높을 수록 구성 성분의 산화 또는 증발 등의 가능성이 생기므로 가능한 한 제조 온도를 낮추는 것이 바람직하기 때문에 60 °C의 온도에서 제조하는 것이 가장 적당하다.

제조온도 외에 제조 방법 또는 조건 등을 몇 가지 달리하여 제조한 ethosome의 변화를 살펴보았다. Figure 1의 전형적인 방법으로 만들었을 때와 비교하여 방법을 달리하여 만든 ethosome의 포집효율과 입자 크기를 Table 1에 요약하여 나타내었다. 교반 속도를 1100에서 520 rpm으로 낮추었을 때 변화를 살펴보면 포집효율은 다소 떨어지는 반면 입자크기는 상당히 크게 증가하는 결과가 나타났다. 교반속도의 감소는 결국 혼합이나 입자 분산 시 전단력이 약하게 가해지는 것을 의미하므로 액정이 입자로 분산될 때 입자 크기를 작게 하기 위해서는 비교적 강한 전단력을 가하는 것이 유리하다. 하지만 앞서 언급했듯이 초음파나 플루리다이저(fluidizer) 등을 사용하여 너무 강한 전단력이 가해질 경우 오히려 액정 입자가 파괴되고 젤 상태가 될 수 있으므로

주의해야 한다. Ethosome 입자의 크기를 더욱 작게 만들기 위하여 ethosome 현탁액에 초음파를 가한 결과 기대와는 달리 입자의 크기는 다소 증가하고 오히려 포집효율이 크게 감소하는 현상이 나타났다. 포집효율이 감소하는 현상을 뒷받침하기 위해 다음과 같은 실험을 진행하였다. 지표물질로 calcein 수용액 대신 CaCl_2 전해질 수용액을 포집시키고 증류수를 분산매로 사용하여 ethosome 현탁액을 만든 후, 여기에 초음파를 가하면서 현탁액의 전도도 변화를 살펴보았다. Figure 8을 보면 초음파를 가한 시간에 비례하여 ethosome 현탁액의 전도도가 증가함을 알 수 있다. 포집효율의 감소나 전도도의 증가는 초음파의 강한 진동에 의해 ethosome에 포집되어 있던 성분들이 베시클 내에서 방출되거나 또는 베시클 입자 표면에 흡착 형태로 둘러싸던 성분들이 탈착되기 때문에 발생한 결과로 예측되는데 좀 더 확실한 설명을 하기 위해서는 베시클 액정 구조에 대한 미시적 관찰이 필요한 것 같다. PBS 용액을 첨가할 때 한 방울씩 서서히 첨가하는 대신 60 mL를 한꺼번에 투입할 경우에는 포집효율은 반 가까이 떨어지고 입자크기는 크게 증가하였다. PBS 용액을 한꺼번에 투입하면 수화액정상이 급격한 온도 및 농도 변화를 겪게 되어 안정적 상태로 베시클 분산이 어렵기 때문으로 생각된다. Ethosome을 냉각시키는 속도에 의한 영향을 살펴보았지만 서서히 상온에서 냉각시키거나 얼음물을 사용하여 급격하게 냉각시키거나 포집효율이나 입자크기에는 큰 변화가 없었다. 분산매질로 PBS대신 증류수를 사용하였을 때 입자크기 변화를 살펴보았다. 증류수나 PBS 용액 등의 분산매질의 종류는 베시클 입자의 크기에는 그다지 영향을 미치지 않았다. 증류수를 사용할 경우 일정한 pH를 유지하기 어려워 calcein 형광광도의 정확한 비교측정이 어렵기 때문에 포집효율은 측정하지 않았다.

4. 결 론

본 연구에서는 구성 성분 간 조성비 및 제조 조건과 방법을 달리하여 만든 ethosome의 포집효율과 입자의 크기 변화를 관찰함으로써 최적의 베시클 제조에 필요한 요건을 알아내고 베시클 특성에 영향을 주는 인자에 대한 분석을 시도하였다. 구성 성분간 조성비 면에서 에탄올은 레시틴을 용해할 수 있는 최소한의 양으로 정하고 calcein 수용액은 유상에서 수상으로 연속상의 전환을 일으키는 양으로 한정하는 것이 최적의 베시클을 만드는데 효과적이다. 자석교반으로 ethosome을 제조할 때 PBS 용액의 첨가량은 베시클 특성에 큰 영향을 미치지 않는다. 레시틴의 종류 즉 PC의 함량은 베시클 특성에 결정적인 요소로 작용하고 소수성이 강한 콜레스테롤 혼합 양을 10 wt% 이내로 하면 베시클 특성에 큰 변화는 없다. 제조 조건 및 방법적 측면을 고려할 때 제조온도는 60 °C가 가장 적당하고 calcein 수용액 첨가 시 교반속도는 클수록 유리하다. PBS 용액은 한 방울씩 서서히 첨가하는 것이

중요하고 초음파 사용은 베시클의 포집효율을 감소시키기 때문에 주의가 필요하다.

감사의 글

이 논문은 2005년도 동덕여자 대학교 학술 연구비 지원에 의하여 수행된 것입니다.

참 고 문 헌

1. K. Egbaria and N. Weiner, *Adv. Drug. Rev.*, **5**, 287 (1990).
2. V. M. Knepp, R. S. Hinz, F. C. Szoka, and R. H. Guy, *J. Control. Rel.*, **5**, 211 (1988).
3. V. M. Knepp, F. C. Szoka, and R. H. Guy, *J. Control. Rel.*, **12**, 25 (1990).
4. M. E. Planas, P. Gonzalez, L. Rodriguez, S. Sanchez, and G. Cevc, *Anesth. Analg.*, **75**, 615 (1992).
5. G. Cevc and G. Blume, *Biochim. Biophys. Acta*, **1104**, 226 (1992).
6. G. Cevc, A. Schatzlein, and G. Blume, *J. Control. Rel.*, **36**, 3 (1995).
7. G. Cevc, G. Blume, A. Schatzlein, D. Gebauer, and A. Paul, *Adv. Drug Del. Rev.*, **18**, 349 (1996).
8. G. Cevc, G. Blume, and A. Schatzlein, *J. Control. Rel.*, **45**, 211 (1997).
9. A. Paul, G. Cevc, and B. K. Bachhawat, *Eur. J. Immunol.*, **25**, 3521 (1995).
10. M. Trotta, E. Peira, F. Debernardi, and M. Gallarate, *Int. J. Pharm.*, **241**, 319 (2002).
11. M. Trotta, E. Peira, M. E. Carlotti, and M. Gallarate, *Int. J. Pharm.*, **270**, 119 (2004).
12. E. Touitou, N. Dayan, L. Bergelson, B. Godin, and M. Eliaz, *J. Control. Rel.*, **65**, 403 (2000).
13. E. Touitou, B. Godin, and C. Weiss, *Drug Dev. Res.*, **50**, 406 (2000).
14. E. Touitou, V. M. Meidan, and E. Horwitz, *J. Control. Rel.*, **56**, 7 (1998).
15. S. Perrett, M. Golding, and W. P. Williams, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 154 (1991).
16. M. Kirjavainen, A. Urtti, R. Valjakka-Koskela, J. Kiesvaara, and J. Monkkonen, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **7**, 279 (1999).
17. B. S. Jin, Y. M. Han, K. H. Lee, and M. J. Choi, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **15**, 205 (2004).