

EGCG가 포집된 Ethosome의 제조와 특성조사

곽효정 · 진병석[†]

동덕여자대학교 응용화학과
(2007년 1월 29일 접수, 2007년 2월 15일 채택)

Preparation and Characterization of EGCG Entrapped Ethosome

Hyo Jung Gwak and Byung Suk Jin[†]

Department of Applied Chemistry, Dongduk Women's University Seoul 136-714, Korea
(Received January 29, 2007; accepted February 15, 2007)

EGCG의 안정성을 향상시키기 위해 ethosome에 포집을 시도하였다. 물에 에탄올을 첨가해서 EGCG의 용해도를 높임으로써 ethosome에 적정량의 EGCG이 포집될 수 있도록 하였다. EGCG 수용액의 농도와 ethosome 막을 구성하는 지질의 조성은 ethosome 입자크기와 포집효율에 상당한 영향을 미치는 것을 확인하고 ethosome의 액정상 형성은 편광 현미경을 사용하여 관측하였다. EGCG가 수용액 상태로 있을 때와 ethosome에 포집되어 있을 때, UV 또는 고온의 상태에서의 안정성을 비교한 결과 ethosome에 포집된 EGCG의 안정화 효과를 확인하였다. Ethosome에 토코페롤의 첨가는 UV에 의한 EGCG의 분해를 지연시켰다.

Entrapment of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) into ethosome was carried out for improving its stability against decomposition. Solubility of EGCG was increased by the addition of ethanol into water, which enable ethosome to entrap appropriate amount of EGCG. It was observed that the EGCG solution concentration and constituent lipid composition had a considerable effect on the particle size and entrapment efficiency of ethosomes. The formation of liquid crystalline phase in ethosome was investigated by polarized optical microscopy. By comparing the stability of EGCG in solution and in ethosome exposed to UV or high temperature, we evaluated the EGCG stabilization effect through its entrapment in ethosome. Incorporation of tocopherol into ethosome retarded the decomposition of EGCG under UV.

Keywords: ethosome, EGCG, stability, liquid crystalline phase, entrapment efficiency

1. 서 론

리포솜은 생체막의 주요성분인 인지질로 만들어지기 때문에 약물이나 화장품 성분 등의 유효성분을 리포솜과 같은 지질 이중층으로 구성된 베시클(vesicle)에 포집(entrapment)시켜 피부투과를 용이하게 하려는 경피투과 전달체에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다[1-3]. 리포솜은 생체 친화적이며 수용성 또는 지용성 약물 모두를 베시클 내로 포집할 수 있다는 장점에도 불구하고 제형의 불안정성, 극히 낮은 포집효율 등의 문제를 안고 있다. 또한 정상적인 피부(intact skin)에서는 깊숙하게 침투가 어려워 효과가 제한적인 경우가 많았다.

리포솜의 피부투과를 높이기 위해 기존의 리포솜을 개선한 새로운 형태의 베시클 개발이 이어졌는데 베시클 막이 gel 상태보다 liquid 상태에서 피부각질층을 더욱 잘 투과할 수 있는 점을 고려해서 더 유연하면서 탄력적(elastic)으로 변형이 쉬운 상태의 베시클을 만들려는 시도가 이루어졌다[4,5]. 그 예로 transfersome, deformable liposome, ethosome 등 다양한 명칭의 베시클이 개발되었는데 이들은 기존의 일반 리포솜에 비해 극단적 변형(ultra deformation)이 가능하여 각질층의 아주 작은 틈 사이로 침투 이동이 더욱 효과적으로 이루어지는 것으

로 보고 있다[6-11]. 실제로 이와 같이 변형된 리포솜은 일반 리포솜에 비해 피부침투가 3~4배 정도 우수하다는 결과를 Trotta 등이 보고 하였다[12,13].

Ethosome은 피부투과 증진제로 흔히 쓰이는 에탄올에 인지질을 용해시켜서 만들어지는 베시클인데 여기서 에탄올은 베시클 막의 계면장력을 낮추고 또한 각질층과 베시클 막의 유연성을 동시에 증가시키는 역할을 하는 것으로 보고 있다[14-16]. Touitou 등[14]은 ethosome이라는 명칭을 처음 사용하고 높은 포집효율과 뛰어난 피부투과 효과를 입증하였지만 그 이전에도 Perrett 등[17]은 proliposome이란 명칭으로 에탄올을 사용하여 리포솜을 쉽게 제조하는 방법을 소개하였고, Kirjavainen 등[18]은 인지질이 에탄올에 용해된 상태로 리포솜을 만들면 피부투과속도가 증가한다는 결과를 발표하였다. 본 연구진 또한 ethosome이 인지질, 에탄올, 물로 구성된 수화 액정형 베시클(hydrated liquid crystalline vesicle)임을 확인하고 ethosome의 포집효율을 높이고 입자크기를 작게 만들기 위한 체계적인 고찰을 시도하였다[19,20].

앞선 연구에서는 ethosome에 수용성 지표(marker)로 형광물질인 calcein을 포집시킨 후 액정 상거동 및 특성에 영향을 주는 요인 등을 분석하여 최적의 ethosome제조에 필요한 조건들을 제시하였고, 이를 바탕으로 본 연구에서는 calcein 대신 실제 유효 성분인 (-)-epi-

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

gallicocatechin gallate (EGCG)를 포집시킨 ethosome을 제조하였다. EGCG는 녹차추출물에 많이 존재하는 폴리페놀 화합물의 일종으로 뛰어난 항산화, 항암 효능이외에도 여러 가지 살균 및 해독, 항바이러스 효과 등이 입증되어 의약품, 화장품, 식품 등에서 널리 각광을 받고 있는 물질이다[21-24]. 그러나 EGCG는 수용액 상태에서 매우 불안정하고 생리활성 효과가 급격히 떨어지는 단점으로 인하여 다양한 분야에서 실제로 사용할 때 어려움이 많았다[25,26]. 이러한 문제 해결을 위해 EGCG를 수화 액정형 베시클인 ethosome에 포집을 시도하여 EGCG의 안정성 향상효과를 살펴보고자 하였다. 이와 더불어 EGCG 수용액의 농도, 베시클 막을 구성하는 지질 조성 등이 ethosome의 포집효율, 입자크기 및 EGCG의 안정성 향상에 주는 영향을 분석하여 최적의 ethosome 제조에 필요한 조건들을 제시하였다.

2. 실험

2.1. 사용 재료

본 연구에서 사용한 인지질은 수소첨가반응을 통해 불포화 성분을 없앤 레시틴(lecithin)으로 포스파티딜콜린(PC) 성분이 95% 이상 들어 있는 Emulmetik 950 (Lucas Meyer)을 사용하였으며 편의상 명칭을 HPC (hydrogenated phosphatidyl choline)로 나타내었다. HPC와 함께 ethosome 베시클 막의 구성 성분으로 쓰이는 콜레스테롤(Ch로 표기)과 토크페롤(To로 표기)은 Sigma 제품을 사용하였다. 실험에 사용한 EGCG는 녹차추출물로 EGCG 성분이 94% 이상 함유된 Teavigo (DSM Nutritional products) 제품을 사용하였다. Ethosome 막을 파괴하는데 쓰이는 Triton X-100은 Sigma 제품을 사용하였고 이외에도 레시틴을 용해시키는데 쓰이는 에탄올은 EP급, HPLC 이동상 제조 시 쓰이는 acetonitrile, 정제수 등은 HPLC 등급용을 각각 사용하였다.

2.2. 사용기기

Ethosome의 액정상 확인은 Nikon Optiphot2-pol 편광현미경을 사용하여 관측하였고 입자 크기는 레이저 광 산란 측정 장치인 PSS의 Nicomp 380 모델을 사용하여 측정하였다. EGCG의 정량분석을 위해 사용한 HPLC는 Young-Lin Acme 모델을 사용하였다. 초음파 기기는 Sonics & Materials Inc.의 VC505 모델(probe type)을 사용했는데 초음파 처리 중 ethosome 현탁액의 온도가 과도하게 상승하는 것을 방지하기 위하여 현탁액 주위를 얼음물로 차갑게 유지하였다. 이 밖에 마이크로 플루이드는 Microfluidics사의 110F 모델, 고속 원심분리기는 한일과학의 Mega 17R 모델을 사용하였다.

2.3. Ethosome 제조

HPC (또는 HPC에 콜레스테롤이나 토크페롤을 10, 20 wt%씩 섞은 HPC 혼합물, 편의상 Ch10, Ch20, To10, To20으로 표기) 1 g과 에탄올 1 mL를 플라스크에 넣고 저온의 냉각수가 흐르는 콘덴서(condenser)를 플라스크 입구에 연결한 후 플라스크를 60 °C의 온도가 유지되는 항온조에 가져간다. HPC가 에탄올에 용해되어 투명한 상태의 용액이 된 상태에서 첫 단계로 EGCG 수용액을 넣고 3 min 이상 자석 교반 시키면 수화액정(hydrated liquid crystal)이 형성된다. 다음 단계로 교반기 속도를 최고(약 1100 rpm)로 유지시킨 상태에서 정량송액 펌프를 이용하여 증류수 60 mL를 약 5 mL/min의 속도로 한 방울씩 서서히 첨가하면 수화 액정은 나노 크기의 베시클 형태의 입자로 분산되게 되는데 이 베시클 입자가 ethosome이다. 항온조에서 위 과정을 총 10 min 가량 진행한 후 플라스크를 상온으로 옮겨 약 1 h 정도

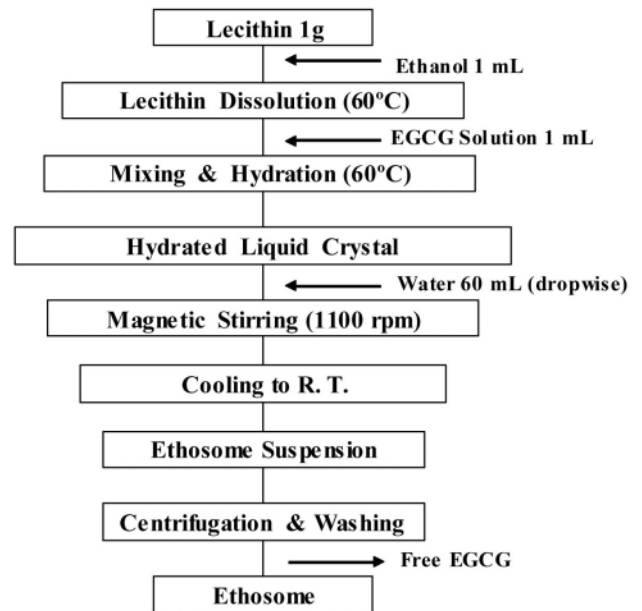


Figure 1. Typical process scheme for the preparation of EGCG entrapped ethosome.

자석 교반시키면서 서서히 냉각시킨다. Figure 1에 ethosome 제조과정을 요약하여 나타내었다.

2.4. 포집효율 측정

제조된 ethosome의 EGCG의 포집 효율을 측정하기 위해 고속 원심분리기를 사용하였다. 먼저 ethosome 현탁액을 고속 원심분리기에 넣고 4 °C, 15000 rpm에서 30 min간 회전시키면 두 층으로 분리된다. 상등액은 베시클에 포집되지 못한 EGCG (free EGCG) 수용액으로 이를 별도의 플라스크에 모은다. EGCG가 포집되어 있는 베시클 입자 침전물에는 일정량의 증류수를 첨가한 후 핸드 믹서를 사용하여 침전물을 다시 분산시킨다. 이를 다시 위와 같은 과정으로 반복 총 3번의 원심분리에 의해 최종적으로 상등액과 베시클 침전물 각각을 따로 모았다. 베시클 막 파괴를 위해 분리된 베시클 침전 입자에 약간의 증류수와 Triton X-100을 첨가하고 60 °C 오븐에 30 min간 보관한다. 이를 꺼내서 0.45 μm 멤브레인 필터를 통과시킨 후 여과액의 농도와 부피를 각각 측정하였다. 별도로 모은 상등액도 전체 부피와 멤브레인 필터를 통과한 여과액의 농도를 측정한다. 포집효율은 아래식과 같은 정의에 의해 구하였다.

$$\text{포집 효율(EE, \%)} = \frac{\text{ethosome에 포집된 EGCG의 질량}}{\text{ethosome에 포집된 EGCG의 질량} + \text{free EGCG의 질량}} \times 100$$

2.5. 산화 안정성 측정

EGCG가 ethosome에 포집되었을 때 산화에 대한 안정 효과를 확인하기 위해 다음과 같은 방법으로 실험을 실시하였다. 원심 분리하여 얻은 베시클 침전물에 증류수를 첨가하여 고루 분산시킨 후 샘플 병에 나누어 담아 40 °C 오븐과 UV 오븐에 각각 보관한다. UV오븐은 254 nm 파장의 UV 램프(15 W) 2개가 장착되어 있고 오븐내의 온도를 상온으로 유지시킨 상태에서 램프로부터 20 cm의 일정한 간격을 두고 시료를 보관하였다. 각각의 오븐에서 매주 일정량을 채취하여

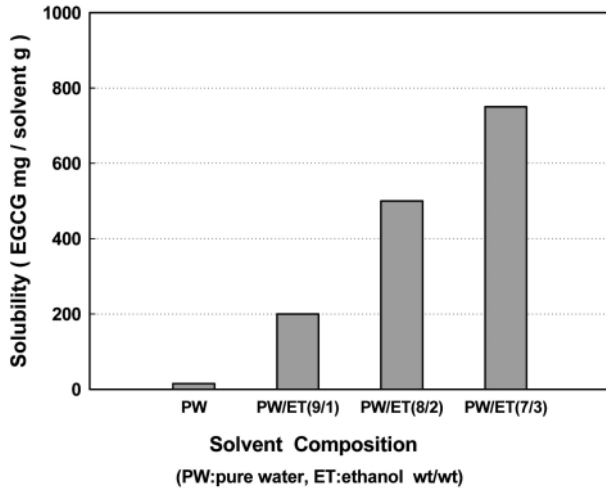


Figure 2. Effect of solvent composition on the solubility of EGCG.

Triton X-100 넣어 베시클 막을 파괴하고 멤브레인 필터를 통과시킨 후 EGCG 용액의 농도를 HPLC를 사용하여 측정하였다. HPLC 측정에서 UV파장 254 nm, flow rate 1 mL/min로 설정하고 column은 synergy hydro RP (250×4.6 mm, phenomenex)를 사용하였다. 이동상은 H₃PO₄와 acetonitrile을 3:1의 비율로 혼합한 pH 2.5의 용액을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

EGCG는 상온의 순수한 물 1 g당 약 10 mg 정도가 용해될 정도로 물에 대한 용해도가 너무 낮기 때문에 이렇게 농도가 낮은 EGCG 수용액으로 ethosome을 만들 경우 포집되는 EGCG의 양이 극히 적어지게 된다. Ethosome에 포집되는 EGCG의 양을 높이기 위해서는 우선 물에 대한 EGCG 용해도를 높여야 하는데 이를 위해서 물에 에탄올을 첨가한 혼합 수용액을 만들어 EGCG의 용해도를 크게 높여 나갔다. Figure 2는 물과 에탄올 혼합비율에 따른 상온에서의 EGCG 용해도를 살펴본 것으로 에탄올 첨가비율을 높일수록 EGCG의 용해도가 크게 증가하고 물과 에탄올의 비율을 7:3 (wt/wt)으로 했을 때는 용매 g 당 EGCG 780 mg 정도까지 용해도가 증가하였다.

혼합수용액에서의 에탄올 첨가비율과 EGCG 수용액의 농도가 ethosome 입자 크기에 미치는 영향을 살펴보았다. 물과 에탄올의 비율을 9:1, 8:2, 7:3으로 하고 EGCG 수용액 농도별로 ethosome을 만든 후 이들의 입자크기를 측정하여 Figure 3에 나타내었다. 모든 용매 비율에서 EGCG 수용액의 농도가 증가할수록 ethosome 입자가 크게 증가하는 경향이 나타났다. 용매비율이 7:3인 경우는 EGCG 수용액의 농도가 100 mg/g, 비율이 9:1, 8:2인 경우는 150 mg/g를 초과한 농도에서는 ethosome 입자가 제대로 형성되지 못하였다. EGCG 수용액 농도에 따라 ethosome이 제대로 형성되는지의 여부는 편광현미경으로 확인하게 관측되었다. Figure 4는 EGCG 수용액 농도가 50 mg/g 일 때와 200 mg/g 일 때의 입자의 형상을 편광현미경으로 관찰하여 비교한 사진이다. 그림 (a)에서는 선명한 십자축의 구정 형(spherical) 모습이 관측되는 등 액정형 베시클(liquid crystalline vesicle)이 잘 형성됨을 알 수 있지만 (b)에서는 십자축의 구정 형 모습은 거의 보이지 않고 커다랗게 석출된 결정입자와 같은 덩어리가 관측됨으로써 액정형 베시클이 제대로 형성되지 못한 것을 알 수 있다. 이는 레시틴용액에

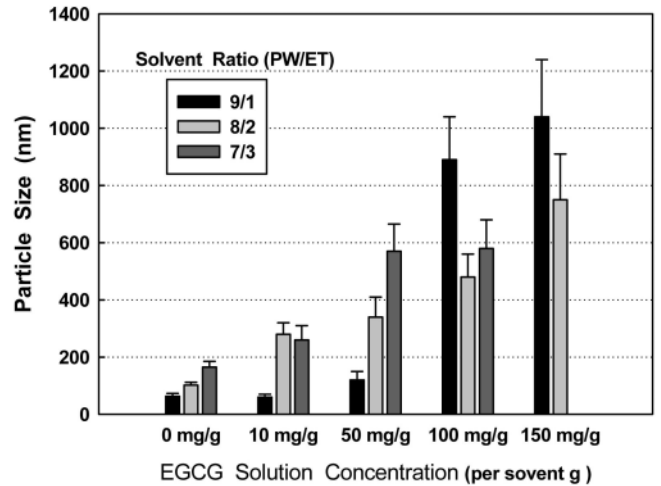
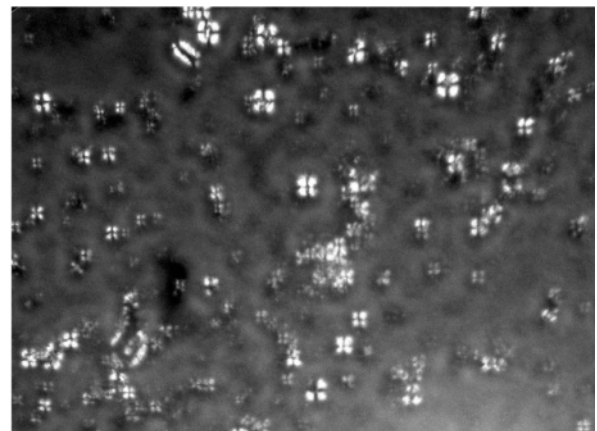
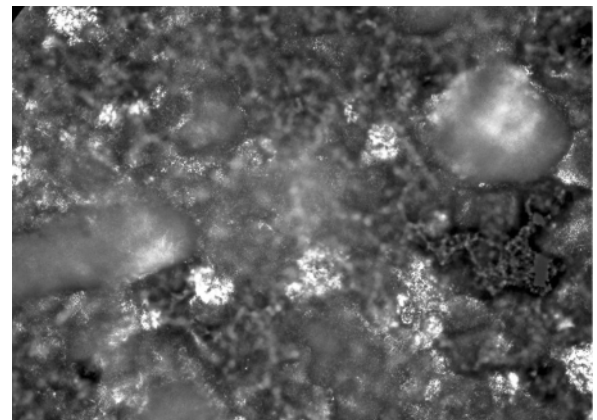


Figure 3. Effect of EGCG solution concentration on the particle size of ethosome.



(a)



(b)

Figure 4. Polarized optical micrographs of ethosome prepared with EGCG solution concentration of (a) 50 mg/g (b) 200 mg/g.

EGCG 수용액이 첨가되어 서로 혼합이 이루어지는 순간, 고농도의 EGCG 수용액은 용해도 감소에 따라 EGCG 석출이 급격히 일어나서 레시틴의 액정배열을 방해하지만 저농도 일수록 EGCG의 석출보다는 레시틴의 액정배열이 우세한 여건이 조성되어 EGCG성분이 레시틴

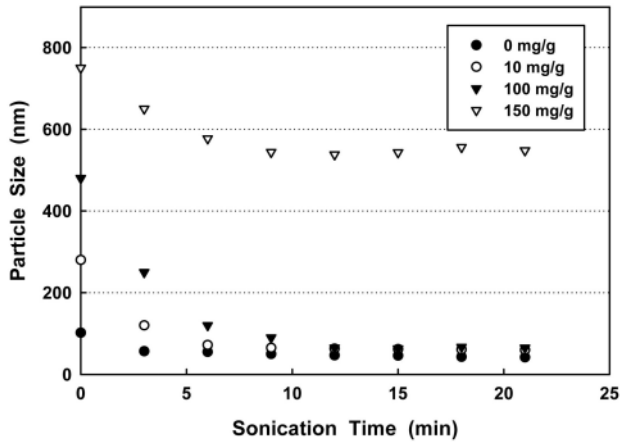


Figure 5. Particle size change of ethosome with sonication time.

액정배열에 포집된 형태로 ethosome 입자가 형성되는 것으로 예측된다. 따라서 EGCG 수용액의 농도는 액정형 베시클의 형성 여부 및 입자 크기에 결정적인 영향을 끼침을 알 수 있다.

EGCG 농도가 낮을 경우는 에탄올이 적게 첨가되는 것이 작은 ethosome 입자 형성에 유리하지만 EGCG 농도를 100 mg/g 이상으로 높일 경우에는 용매조성을 8:2로 하였을 때가 작으면서 비교적 안정된 크기분포의 ethosome 입자가 형성된다. EGCG 수용액에서 에탄올의 비율증가는 EGCG 용해도를 증가시킬 수 있지만 과도한 에탄올 양의 증가는 레시틴(HPC)의 수화형 액정배열, 즉 에탄올에 용해되어 있는 레시틴이 비용매인 물을 만나서 형성하게 되는 분자 간 배열을 어렵게 만들기 때문에 이로 인해 ethosome 입자가 크게 형성된다. 앞서 발표한 논문에서도 레시틴, 에탄올, 수용액 혼합 시 에탄올 양의 증가에 따른 ethosome 입자의 크기 증가를 밝힌 바 있다[20]. 이와 같은 결과를 토대로 할 때 EGCG를 최대한 많이 포집한 ethosome을 만들려면 용매는 물과 에탄올을 8:2의 비율로 만들어 EGCG를 용해시키는 것이 적당하고 따라서 이후 실험에서는 EGCG를 물과 에탄올 비율을 8:2로 고정하여 만든 용매 속에 녹여 사용하였다.

Figure 5는 자석 교반기로 제조된 ethosome 수용액에 초음파를 가했을 때 초음파를 가한 시간에 따른 ethosome 입자크기의 변화를 나타낸 그림이다. EGCG 수용액의 농도 0, 10, 100 mg/g를 각각 포집한 ethosome의 경우는 초음파를 가했을 때 입자의 크기가 작아지면서 최종적으로 100 nm 이하의 입자크기에 도달한다. 이에 반하여 150 mg/g 농도의 수용액을 포집시킨 경우는 초음파를 아무리 가해도 500 nm 이하로 입자크기가 작아지지는 않는다. 이런 현상은 마이크로 플라다 이저를 사용했을 때도 똑같이 일어났는데 100 mg/g 이하의 농도의 ethosome은 마이크로 플라다 이저에 3번 통과시킴으로써 입자크기를 100 nm 이하로 줄일 수 있었지만 150 mg/g의 농도의 ethosome은 입자 크기가 500 nm 이하로 작아지지 않았다(Figure 6). Ethosome 제조 시 150 mg/g 농도의 수용액을 포집시킬 때는 가까스로 액정 입자 형성이 되는 점을 고려한다면 이 때 형성되는 입자는 액정 배열로만 이루어진 것이 아니라 석출된 EGCG 결정과 함께 입자를 구성할 가능성이 높고 이런 경우 전단력으로 입자를 아주 작게 만드는데 한계가 있다.

Table 1은 ethosome 막을 구성하는 지질 성분 조성에 따른 입자 크기와 포집 효율의 변화를 나타낸 것이다. 레시틴에 콜레스테롤 또는 토크페롤을 첨가한 혼합물의 표기는 이들 성분의 약어 다음에 첨가 비율을 숫자로 표시하였다. 표를 살펴보면 레시틴에 콜레스테롤과 토크페롤을 첨가하였을 때 입자 크기가 증가하는 것을 볼 수 있다. 레시틴

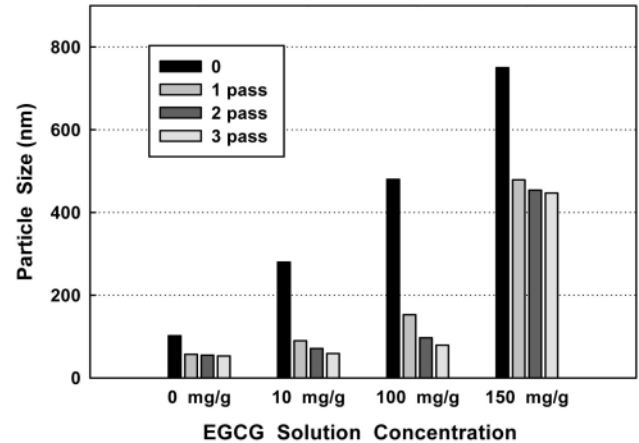


Figure 6. Particle size change of ethosome with the numbers passed on microfluidizer (pass pressure : 700 bar).

Table 1. Particle Size (PS) and Entrapment Efficiency (EE) of Ethosomes Prepared with Various Lipid Compositions (EGCG Conc. 50 mg/g)

Lipid Composition	PS (nm)	EE (%)
HPC	340 ± 70	96 ± 2
HPC / Ch10	470 ± 68	92 ± 3
HPC / Ch20	645 ± 85	78 ± 5
HPC / To10	708 ± 94	92 ± 3
HPC / To20	853 ± 101	76 ± 5

주성분인 HPC의 두 지방산 사슬은 용액 상에서 라멜라 액정배열을 한다. 여기에 콜레스테롤이나 토크페롤 등이 첨가되면 이들은 라멜라 배열 층 사이에 위치하여 지방산 사슬과 서로 얽혀진 이중 층(interdigitated bilayer)을 형성하면서 액정배열이 조밀하게 형성되지 못하고 입자가 크게 형성된다. 또한 지질 조성에서 콜레스테롤이나 토크페롤 등의 첨가비율이 높아지면 포집효율이 낮아지는 것을 알 수 있다. Ethosome은 HPC 구조에서 친수성 머리 부분(hydrophilic head group)에 해당하는 글리세롤, phosphate, choline기의 강한 인력에 의해 EGCG 수용액이 포집되어 수화액정이 형성되는데 반해 HPC에 비해 친수성이 약한 콜레스테롤이나 토크페롤의 양이 많아지면 EGCG 수용액과의 친화력이 떨어져 포집효율이 낮아지는 것으로 예상된다. 이 밖에도 콜레스테롤이나 토크페롤 등의 첨가는 액정 막 자체의 규칙성과 조밀성을 감소시켜 막 내로 포집되었던 EGCG 성분이 제조 과정에서 유실될 가능성이 커지고 이에 따라 포집효율이 낮아질 수도 있다. 콜레스테롤이나 토크페롤 10 wt% 첨가는 ethosome의 포집 효율에 그다지 큰 영향을 미치지 않지만 20 wt% 첨가 시 포집효율이 크게 낮아지는 것으로 봐서 이들의 첨가량을 10 wt% 내외로 제한하는 것이 바람직하다.

EGCG는 폴리페놀 화합물로 수용액 상태에서 쉽게 분해가 되어버리기 때문에 실제로 생리활성 물질로 활용하는데 있어 많은 제한을 받게 된다. EGCG의 안정성을 도모하기 위하여 지질 조성을 달리한 여러 ethosome에 EGCG를 포집시킨 후 EGCG가 수용액 상태로 존재할 때와 비교하여 ethosome에 포집되어 있을 때 상대적으로 얼마나 안정화되는 효과가 있는지를 Figure 7에 비교하여 나타내었다. (a)는 외부로부터 빛이 차단된 40 °C의 오븐에 보관했을 때 시간경과에 따른

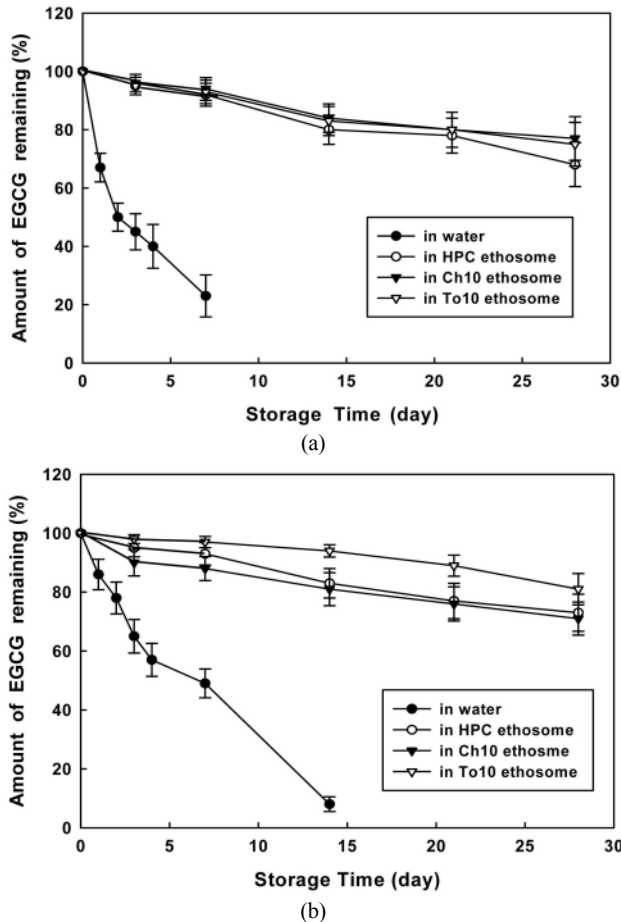


Figure 7. Change of EGCG remaining with storage time (a) at 40 °C (b) under UV.

EGCG 농도변화를 살펴본 것으로 수용액 상태에서 1주 동안에 분해되지 않고 남아있는 EGCG의 양은 약 23% 정도다. 하지만 ethosome에 포집되어 있으면 4주 후에도 70% 이상의 많은 양의 EGCG가 분해되지 않은 채로 남아 있는 것을 확인 했다. (b)는 상온을 유지하면서 UV 램프가 장착된 오븐에 보관했을 때 분해정도를 비교한 것이다. (a)의 경우와 마찬가지로 EGCG가 수용액 상태로 있을 때는 2주 만에 대부분이 분해되었지만 ethosome에 포집되어 있을 때는 분해가 지연되어 4주 후에도 70~80% 정도의 EGCG가 남아있는 것을 확인할 수 있었다. 특히 토코페롤을 첨가한 경우(To10) EGCG의 안정성이 더욱 향상되는 것을 확인할 수 있었다. 수용액 상태로 있는 EGCG는 노출된 외부 환경에 따라 산화에 의한 분해 반응이 자유롭게 진행될 수 있는데 반하여 ethosome에 포집된 경우는 EGCG가 분자 간 규칙적 배향을 갖는 액정 구조 속에 갇힘으로써 상대적으로 분자의 운동성이 적어지고 분해 반응이 제한적으로 일어나게 된다. 또한 액정 막은 빛을 산란시킨다든지 기타 외부로부터의 반응인자를 차단하는 역할을 함으로써 액정 막 내에 포집된 불안정한 물질의 안정성을 향상시키는 특성을 나타내게 된다. 토코페롤은 산화 반응 중에 발생하는 활성 자유 라디칼(active free radical)을 안정화 시키는 산화안정제(antioxidant)의 특성이 있으므로 ethosome막 구성성분으로 첨가된 경우 EGCG 안정화에 더욱 효과를 나타내게 된다[27,28].

4. 결 론

Ethosome은 일반 리포솜에 비해 제조과정이 간단하고 포집효율이 아주 높은 장점을 지니고 있다. 본 연구에서는 이러한 ethosome에 유효성분으로서 항산화, 항암 효능이 뛰어난 EGCG를 포집시켜 EGCG의 안정성 향상 효과를 살펴하였다. Ethosome에 포집되는 EGCG의 양을 높이기 위해서는 우선 고농도의 EGCG 수용액이 만들어져야 하는데 물에 대한 EGCG의 용해도가 낮기 때문에 20 wt% 비율의 에탄올을 첨가한 수용액에 EGCG를 용해시켜 ethosome을 제조하였다. 농도 50 mg/g의 EGCG 수용액으로 만든 ethosome의 포집효율이 최대 96% 일 때, 지질 g당 포집되는 EGCG의 양은 대략 48 mg이 된다. EGCG 수용액의 농도가 높을수록 형성되는 ethosome 입자는 커지고 농도가 150 mg/g를 초과하면 ethosome 입자를 만들기가 어렵다. HPC에 콜레스테롤이나 토코페롤이 첨가되면 ethosome의 입자는 커지고 포집효율은 감소하므로 이들의 첨가비율을 10 wt% 이내로 제한하는 것이 좋다. EGCG가 수용액 상태로 있을 때와 ethosome에 포집되어 있을 때, UV 또는 고온(40 °C)의 상태에서의 안정성을 비교하였다. 40 °C 고온일 때 수용액 상태에서 1주 동안에 분해되지 않고 남아있는 EGCG의 양은 약 23% 정도에 불과하지만 ethosome에 포집되어 있으면 4주 후에도 70% 이상의 많은 양의 EGCG가 분해되지 않은 채로 남아 있는 것을 확인했다. UV 램프가 장착된 오븐에 보관했을 때 EGCG가 수용액 상태로 있을 때는 2주 만에 대부분이 분해되었지만 ethosome에 포집되어 있을 때는 분해가 지연되어 4주 후에도 70~80% 정도의 EGCG가 남아있는 것을 확인할 수 있었다. Ethosome에 토코페롤의 첨가는 UV에 의한 EGCG의 분해를 지연시켰다.

참 고 문 헌

1. K. Fletcher, *Pharm. Science & Technol. Today*, **1**, 49 (1998).
2. M. Kirjavainen, A. Urtti, R. V. Koskela, J. Kiesvaara, and J. Monkkonen, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **7**, 279 (1999).
3. K. Egbaria and C. Ramachandran, and N. Weiner, *Skin Pharmacol. Phys.*, **4**, 21 (1991).
4. V. M. Knepp, R. S. Hinz, F. C. Szoka, and R. H. Guy, *J. Control. Release*, **5**, 211 (1988).
5. V. M. Knepp, F. C. Szoka, and R. H. Guy, *J. Control. Release*, **12**, 25 (1990).
6. M. E. Planas, P. Gonzalez, L. Rodriguez, S. Sanchez, and G. Cevc, *Anesth. Analg.*, **75**, 615 (1992).
7. G. Cevc and G. Blume, *Biochim. Biophys. Acta*, **1104**, 226 (1992).
8. G. Cevc, A. Schatzlein, and G. Blume, *J. Control. Release*, **36**, 3 (1995).
9. G. Cevc, G. Blume, A. Schatzlein, D. Gebauer, and A. Paul, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **18**, 349 (1996).
10. G. Cevc, G. Blume, and A. Schatzlein, *J. Control. Release*, **45**, 211 (1997).
11. A. Paul, G. Cevc, and B. K. Bachhawat, *Eur. J. Immunol.*, **25**, 3521 (1995).
12. M. Trotta, E. Peira, F. Debernardi, and M. Gallarate, *Int. J. Pharm.*, **241**, 319 (2002).
13. M. Trotta, E. Peira, M. E. Carlotti, and M. Gallarate, *Int. J. Pharm.*, **270**, 119 (2004).
14. E. Touitou, N. Dayan, L. Bergelson, B. Godin, and M. Eliaz, *J. Control. Release*, **65**, 403 (2000).

15. E. Touitou, B. Godin, and C. Weiss, *Drug Dev. Res.*, **50**, 406 (2000).
16. E. Touitou, V. M. Meidan, and E. Horwitz, *J. Control. Release*, **56**, 7 (1998).
17. S. Perrett, M. Golding, and W. P. Williams, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 154 (1991).
18. M. Kirjavainen, A. Urtti, R. Valjakka-Koskela, J. Kiesvaara, and J. Monkkonen, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **7**, 279 (1999).
19. B. S. Jin, Y. M. Han, K. H. Lee, and M. J. Choi, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **15**, 205 (2004).
20. B. S. Jin, S. M. Lee, and K. H. Lee, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **17**, 138 (2005).
21. H. J. Fujiki, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **125**, 589 (1999).
22. D. A. Balentine, S. A. Wiseman, and L. C. Bouwens, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **37**, 693 (1997).
23. D. G. Stoner and H. Mukhtar, *J. Cell. Biochem.*, **22**, 169 (1995).
24. S. C. Yang, P. Maliakal, and X. Meng, *Annu. Rev. of Pharmacol. Toxicol.*, **42**, 25 (2002).
25. Y. L. Su, L. K. Leung, Y. Huang, and Z. Y. Chen, *Food Chem.*, **83**, 189 (2003).
26. S. Proniuk, B. M. Liederer, and J. Blanchard, *J. Pharmacol. Sci.*, **91**, 111 (2002).
27. X. Wang and P. J. Quinn, *Prog. Lipid Res.*, **38**, 309 (1999).
28. V. M. Di Mambro, A. E. C. S. Azzolini, Y. M. L. Valim, and M. J. V. Fonseca, *Int. J. Pharm.*, **262**, 99 (2003).