

Edge Activator가 수화 액정형 베시클의 입자크기와 피부 침투에 미치는 영향

이서영 · 임윤미 · 진병석[†]

동덕여자대학교 자연과학대학 응용화학과
(2017년 8월 3일 접수, 2017년 9월 13일 심사, 2017년 10월 10일 채택)

Effects of Edge Activator on the Droplet Size and Skin Permeation of Hydrated Liquid Crystalline Vesicles

Seo Young Lee, Yoon Mi Lim, and Byung Suk Jin[†]

Department of Applied Chemistry, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea
(Received August 3, 2017; Revised September 13, 2017; Accepted October 10, 2017)

초 록

베시클 막을 유연하게 만드는 edge activator를 혼합하여 수화 액정형 베시클을 제조하고 niacinamide를 베시클 안에 포집시켰다. 제조 과정 중 액정 상 형성 및 액정의 열적 상전이 현상을 편광현미경과 시차주사 열량계(DSC)를 통해 살펴보았다. Sodium deoxycholate, lysolecithin, polysorbate 80 등의 edge activator를 첨가하면 수화 액정형 베시클 입자 수 십 나노 사이즈로 줄어들었다. 수화 액정형 베시클을 활용하여 niacinamide를 피부 침투시키면 수용액 상태로 도포했을 때보다 피부 침투된 niacinamide의 양이 크게 증가하는데, 10% sodium deoxycholate를 혼합한 베시클에서는 niacinamide 침투량이 4배 가까이 증가하였다. 이러한 결과로부터 edge activator를 베시클에 혼합하면 베시클의 피부 침투력이 향상됨을 알 수 있었다.

Abstract

Hydrated liquid crystalline vesicles incorporating a edge activator, which confers flexibility to the vesicle membranes, were prepared and niacinamide was encapsulated in them. The formation of liquid crystalline phases and their thermal phase transitions were investigated by polarized optical microscopy and differential scanning calorimetry (DSC), respectively. Droplet sizes of the vesicles were reduced to several tens of nanometers by incorporating edge activators, such as sodium deoxycholate, lysolecithin, or polysorbate 80. The amount of niacinamide permeated into a pig skin increased greatly using the hydrated liquid crystalline vesicles compared to the case where niacinamide was applied in an aqueous solution state. The vesicles incorporating 10% sodium deoxycholate increased the amount of niacinamide permeated nearly four times. These results suggest that edge activators are effective in improving the skin permeability of vesicles.

Keywords: edge activator, hydrated liquid crystalline vesicle, niacinamide, skin permeation

1. 서 론

피부 표피층의 최외각에는 각질층(stratum corneum)이 존재하여 외부 물질의 피부 투과침투를 막는 큰 장벽으로 작용하고 있다. 각질층은 죽은 각질세포와 이들 각질세포 사이의 지질층으로 구성되어 있는데, 일반적으로 외부 물질의 피부투과는 죽은 각질세포를 직접 투과(transcellular route)하기보다는 각질세포 사이의 지질층을 통한 투과(intercellular route)가 더욱 효과적인 것으로 알려져 있다. 이때, 분자의 사이즈, 친유성 정도 및 구성요소, 피부침투 증가제에 따라 피부 깊은 층까지 활성물질들이 도달할 수 있는 정도가 달라진다[1]. 따라서 지질을 주성분으로 하는 베시클에 어떤 효능물질을 포집시켜 피부

투과시킬 경우, 베시클과 피부 지질층과의 친화성으로 인해 효능 물질의 피부 침투가 더욱 잘 이루어지기 때문에 지질 소재 기반의 경피 투과용 베시클이 주목을 받고 있다.

지질 소재 기반의 경피 투과용 베시클의 대표적인 예로 리포솜을 들 수 있다. 리포솜은 인지질(phospholipid) 이중층(bilayer)이 내부에 물을 포함하는 구조의 구형 베시클로 피부 투과 증진 외에도 산화가 쉬운 불안정한 물질의 안정화, 포집된 물질의 방출속도 조절 등의 기능으로 오래전부터 의약, 식품 및 화장품에 널리 활용되어 왔다. 하지만 리포솜은 막 자체의 물리적 안정성이 낮고, 포집되는 물질이 제한적이면서 포집 효율도 낮고, 또한 피부 속 깊이 침투하지 못하고 피부 각질층에 남는 경우도 많아 이를 해결하기 위해 많은 연구와 다양한 방법들이 시도되어 왔다[2-3].

피부 각질층의 각질세포 사이의 지질층 간격은 대략 수십 나노미터이기 때문에 리포솜과 같이 수백 나노미터 이상의 크기를 갖는 베시클은 지질층 통과가 쉽지 않다. 따라서 베시클의 지질층 통과가 쉽게

[†] Corresponding Author: Dongduk Women's University, Department of Applied Chemistry, Seoul 02748, Korea
Tel: +82-2-940-4513 e-mail: bsjin@dongduk.ac.kr

이루어지기 위해서는 베시클 자체가 좀 더 유연하면서 탄력적으로 변형이 가능해야 하는데 이러한 원리를 적용하여 *transfersome*, *ethosome*이 개발되었다. *Transfersome*은 *edge activator*라고 일컫는 단일 사슬의 계면활성제를 인지질에 혼합하여 만들어진 베시클로 G. Ceve에 의해 제안되었다. *Edge activator*는 인지질과 함께 구형 베시클 막의 곡면을 함께 구성하는데 인지질과 다른 곡률 반경을 갖는 *edge activator*는 베시클의 지질 이중층 막을 약화시켜 베시클 막의 변형이 쉽게 일어날 수 있도록 유도하고 있다[4].

Touitou[5]가 개발한 *ethosome*은 에탄올에 인지질을 녹인 후 이를 물에 분산시켜 만든 지질 베시클로 *ethosome*에 함유된 에탄올이 각질 세포의 지질층에 접근하여 지질의 Tm을 낮추면서 지질층의 유동성을 증가시키고 견고한 구조의 장벽 막을 느슨하게 만들어 결국에는 *ethosome*의 투과 효능을 높게 된다. 에탄올은 피부조직 구조에 영향을 주면서 동시에 *ethosome* 자체 막도 아주 유연하게 쉽게 변형되도록 하여 피부 각질세포 사이의 좁은 간격을 뚫고 피부 내부로 *ethosome* 침투가 용이하도록 돕는다[6]. 이밖에도 에탄올은 여러 효능물질의 용해도를 높여 *ethosome*의 포집효율을 높이는 역할도 한다.

*Transfersome*과 *ethosome*의 뛰어난 피부투과 침투 효능에 대해서 여러 논문 발표에서 입증되어 있고 있지만[7-9], *transfersome*은 효능 성분의 포집효율이 그리 만족스럽지 못하고 제조 과정 중에 유기 용매 사용, 높은 제조 단가의 문제를 지니고 있다. 그리고 *ethosome*의 경우에는 물리적 안정성이 낮고 에탄올 성분을 비교적 많이 함유(20-45%)하기 때문에 피부에 적용하기 어려운 한계를 지니고 있다[10].

본 연구진은 기존 *ethosome* 제조와 다른 방법으로, 수화과정용을 통하여 lyotropic 라멜라 액정 배열을 유도한 후, 이 액정을 rotational isomerization 상태에서 물 속에 분산시키는 비교적 간단한 2단계 공정으로 수화 액정형 베시클(hydrated liquid crystalline vesicle)을 개발하였다. 이 공정을 통해 에탄올 양을 최소화(5% 이내)하고 리포솜 대비 상당히 높은 포집 효율로 수용성 또는 지용성 여러 효능 성분의 포집을 시도하였다[11-13].

본 연구에서는 수화 액정형 베시클에 여러 *edge activator*를 혼합하면서 *edge activator*의 종류, 혼합 비율에 따라 수화 액정상의 결정성, 베시클 표면전하, 입자크기 변화 등을 살펴보았다. 베시클에는 수용성의 niacinamide (NA)을 포집시키는데, 비타민 B3의 아마이드 형태인 NA는 모발이나 피부 컨디셔닝제로 쓰이고, 미백기능도 있어 화장품에 2% 이상 배합될 경우 미백개선 기능성화장품으로 표기된다. 또한 NA는 불용성이나 난용성 물질의 용해도를 높이는 hydrotrope 특성이 있어 물에 잘 녹지 않는 기능성 원료들의 용해를 돕는 보조 물질로 제약이나 화장품에 널리 사용되고 있다. EA종류별 수화 액정형 베시클을 피부에 적용했을 때 베시클에 의한 NA의 피부 침투 증진효과를 살펴보면 *edge activator*가 베시클의 피부침투력에 미치는 영향을 비교 분석하였다.

2. 실험

2.1. 사용 재료

베시클의 주성분으로 사용된 인지질은 soybean에서 추출한 지질을 수소 첨가시켜 불포화 성분을 제거한 레시틴으로 phosphatidyl choline 성분이 95% 이상인 Emulmetik 950 (Lucas Meyer사)를 사용하였다. 편의상 명칭을 HPC (hydrogenated phosphatidyl choline)로 표기하였다. *edge activator* (EA)로 사용되는 sodium deoxycholate (SD), Tween 80 (polysorbate80, TW), cholesterol (CH), lysolecithin (LY)과 베시클

내로 포집되는 효능 물질인 niacinamide (NA) 모두 Sigma-Aldrich사의 제품을 사용하였다.

2.2. 사용기기

베시클 제조 시 사용하는 초음파 분쇄기는 Sonics & Materials Inc.의 VC505 모델(probe type)을 사용하였고, 베시클 입자 크기와 표면 전하를 확인하기 위해 레이저 광산란 측정 장치인 Brookhaven사의 Zeta Plus 모델을 사용하였다. 입자 형성과정을 관찰하기 위해 사용한 편광 현미경은 Nikon사의 ECLIPSE E400 POL 모델이고 Cryo-TEM은 FEI Tecnai F20 모델을 사용하였다. 이온 전도도는 Orion 150 모델의 conductivity meter를 사용하였다. 베시클 막의 결정성은 TA의 시차주사 열량계(DSC) Q-10 모델을 사용하고 질소가스 주입속도는 50 mL/min, 승온 속도는 10 °C/min, 온도범위는 0~100 °C로 설정하여 측정하였다. 돼지 피부에 침투한 NA의 정량분석을 위해 사용한 HPLC는 Young-Lin Acme 모델을 사용하였다. 펌프는 SP930D, 검출기는 UV-730D, 컬럼 오븐은 CTS30 모델을 사용하였다. NA 측정을 위한 컬럼은 Synergi의 4 µm Hydro-RP를 사용하였다. NA 이동상은 0.1% sodium 1-hexanesulfonate를 함유한 인산용액(pH 3)과 acetonitrile의 97 : 3 (v/v) 혼합용액을 사용하였고, 유속은 1.5 mL/min으로 흘러보내면서 파장 210 nm에서 측정하였다.

2.3. 수화 액정형 베시클 제조

HPC에 EA를 5, 10, 15 wt%씩 섞은 혼합물 1 g과 에탄올 0.8 g (1 mL)을 등근 바닥 플라스크에 넣은 후, 입구를 마개로 막고 60 °C 항온조에서 완전히 용해시켜 투명한 졸 용액을 만들었다. 이를 상온에 굳힌 후 다시 60 °C 항온조에 가져가 투명한 졸 용액이 되면 NA 수용액 1 mL (농도 500 mg/mL)를 넣고 2 min 이상 자석 교반시켰다. 그러면 졸 용액은 겔 상태로 변하면서 유백색의 수화 액정상이 형성된다. 교반기를 계속 돌려 전단력을 가하는 상태에서 정량용액 펌프를 이용해 증류수 47 mL를 약 4 mL/min의 속도로 서서히 첨가하면 수화 액정상은 베시클 형태의 입자로 물속에 분산된다. 베시클 입자가 분산된 현탁액에 초음파를 가하여 베시클을 더 작고 균일한 입자 크기로 만들고 이를 상온까지 냉각시켜 수화 액정형 베시클을 최종적으로 완성한다.

2.4. in vitro 피부 침투 실험

피부 침투 실험에 사용된 피부는 피하지방이 깨끗하게 제거된 등심 부위의 돼지 피부로 경기도 광주 축산시장에서 특별히 주문 구입하여 사용하였다. 돼지 피부 표면에 묻은 기름을 제거하고, 5 cm × 5 cm의 일정한 크기로 자른 후, 돼지 피부 표면에 0.25 mL의 시료를 골고루 도포하였다. 피부 및 시료가 건조되지 않도록 페트리 디쉬에 돼지 피부를 놓고 뚜껑을 닫아 상온에서 보관하였다. 5 h이 지난 후, 돼지 피부를 꺼내서 피부 표면을 흐르는 물에 충분히 씻고 흡습지로 돼지 피부 표면의 물기를 닦아내며 피부표면을 건조시켰다. 돼지 피부 표면에 강력 접착테이프를 붙인 후 떼어내는 방식으로 3회를 반복하여 피부의 각질층을 제거시켰다. 각질층이 제거된 돼지 피부를 작은 조각으로 잘게 자른 후, 삼각플라스크에 넣고 에탄올과 함께 24 h 동안 자석 교반시켰다. 삼각 플라스크에서 에탄올을 걸러서 필터링 과정을 거친 후, 에탄올에 추출된 NA의 농도를 HPLC로 정량 분석하였다.

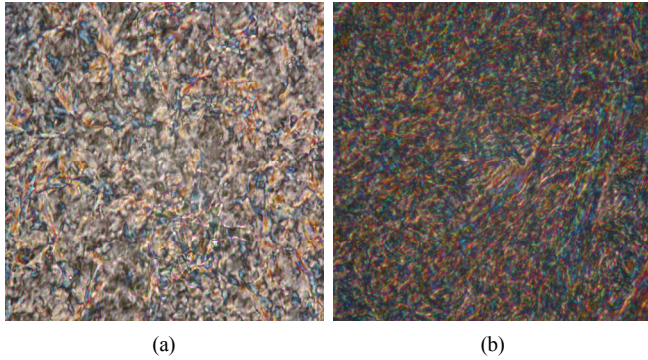


Figure 1. Polarized optical micrographs of (a) thermotropic liquid crystalline phase for HPC 0.9 g/SD 0.1 g/ethanol 0.8 g at R. T. (b) hydrated liquid crystalline phase for HPC 0.9 g/SD 0.1 g/ethanol 0.8 g/NA solution 1 g at R. T.

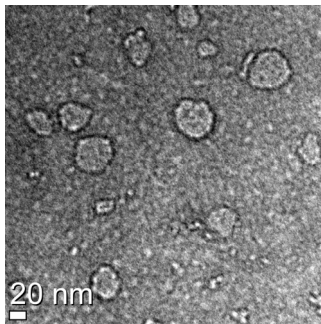


Figure 2. TEM image of hydrated liquid crystalline vesicles incorporating edge activator (SD).

3. 결과 및 고찰

액정은 온도에 따른 열방성(thermotropic)액정과 용매 농도에 따른 유방성(lyotropic) 액정으로 나뉘게 되는데, 소량의 용매에 HPC와 EA를 용해시켜 만든 액정은 위 두 가지 특성을 모두 지닌다. HPC에 EA인 SD를 혼합한 후, 소량의 에탄올을 첨가하여 60 °C 이상으로 온도를 올려주면 투명한 등방성(isotropic) 상태가 된다. 이러한 등방성 상태에서 온도를 상온으로 낮추면 HPC, SD 분자가 배열을 하면서 액정이 형성되는 열방성 특성을 보이게 된다. 편광현미경으로 등방성 상태를 관측하면 투과 빛의 복굴절이 없기 때문에 아무 모습이 관측되지 않다가 온도를 내려 비등방성(anisotropic) 상태가 되면 Figure 1(a)과 같은 미세한 모자이크 구조(fine mosaic texture)의 모습이 관측된다. 60 °C 이상 온도의 등방성 상태에서 온도를 내리는 대신에 물(또는 수용액)을 첨가해도 액정이 만들어진다. 이는 비용매(non-solvent)로 작용하는 물을 첨가하면 에탄올이 희석되면서 용해력이 떨어지고 HPC, SD 분자 배열이 일어나기 때문이다. 이 액정은 용매의 농도에 의존하는 유방성 특성의 액정이기도 하지만, 또한 물의 첨가에 의하여 액정이 형성되었기 때문에 수화 액정으로도 볼 수 있다. 편광 현미경으로 Figure 1(b)와 같은 수화 액정 모습을 확인할 수 있었다.

수화 액정은 지질 이중층(bilayer)과 물 층이 교대로 배열된 라멜라(lamella)형 구조의 액정 상으로 젤(gel)과 같은 특성의 외관을 보인다. 이러한 액정 상에 물을 계속적으로 서서히 첨가하면서 전단력을 가하게 되면, 라멜라 형 구조가 깨지면서 지질 이중층은 구형의 베시클 입자 형태로 물속에 분산이 이루어진다[14]. 베시클 분산용액을 다시 초

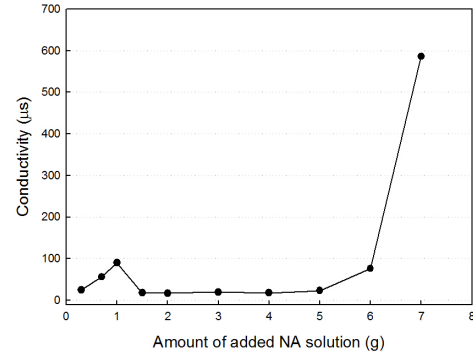


Figure 3. Conductivity change with addition of NA solution into ethanol-dissolved HPC/SD mixture (0.9/0.1) g.

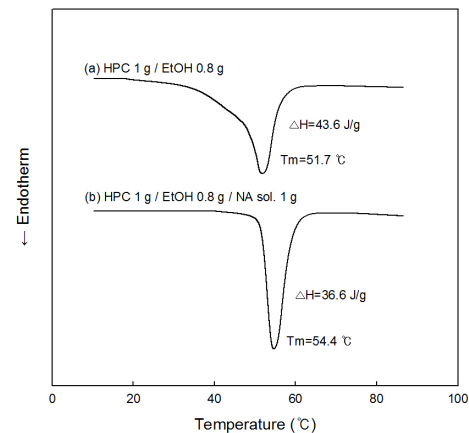


Figure 4. DSC thermograms of (a) thermotropic liquid crystalline phase for HPC 1 g/ethanol 0.8 g (b) hydrated liquid crystalline phase for HPC 1 g/ethanol 0.8 g/NA solution 1 g.

음과 처리하여 최종적으로 완성된 베시클 입자를 TEM으로 확인하면 Figure 2와 같이 아주 작은 수십 나노 크기 입자로 나타난다.

HPC, EA를 고온에서 용해시킨 후 NA 수용액을 첨가하면, NA 수용액의 첨가되는 양에 따라 용액 전체의 전도도(conductivity) 값의 변화가 나타나는데, 이를 통해 혼합 용액의 조성 비율에 따라 상(phase)의 변화를 예측할 수 있다. 코니칼 튜브에 HPC 0.9 g, SD 0.1 g 에탄올 0.8 g을 혼합하여 넣고 60 °C의 항온조에서 이들을 완전히 용해시킨 후, NA 수용액을 조금씩 첨가해 가면서 전도도를 측정할 결과를 Figure 3에 나타내었다. HPC, SD를 에탄올에 완전히 용해시킨 후 전도도를 측정하면 그 수치 값은 거의 0에 가까운 유상이 된다. 여기에 NA 수용액을 소량 첨가해 가면, 유상 속에 수상이 분산된 W/O 상태를 유지하면서 첨가량에 비례하여 전도도 값이 조금씩 증가하게 된다. 하지만 NA 수용액 첨가량이 약 1 g을 넘으면서 W/O 구조로부터 유상과 수상이 교대로 층을 형성하면서 배열되는 bi-continuous 라멜라형 액정 구조로 상 전환이 일어난다. 이 라멜라형 액정 구조는 지질 층 사이에 수용액 층이 갇힌 젤(gel) 상태이기 때문에 전도도 값이 다시 감소하게 된다. NA 수용액을 5 g까지 첨가하면 라멜라형 액정구조가 계속 유지되어 전도도 변화가 거의 없지만 6 g 이상으로 늘리면 전도도가 수백 µS 이상으로 급격히 증가하는 것을 볼 수 있다. 6 g 이상으로 수용액이 증가하면 라멜라형 액정 구조가 파괴되고 베시클 형태의 분산이 일어나면서 NA 수용액이 연속상이 되기 때문에 전도도가 크게 증가하는 것이다.

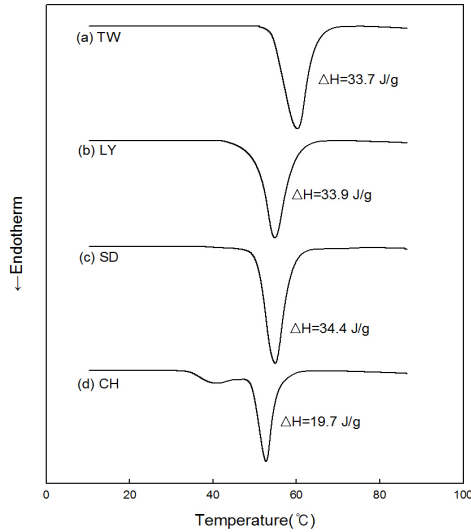


Figure 5. DSC thermograms of various hydrated liquid crystalline phases with different edge activators.

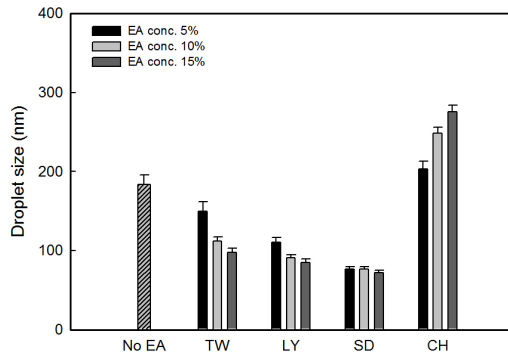


Figure 6. Change in the droplet size of hydrated liquid crystalline vesicles with different edge activators.

HPC에 혼합되는 성분의 조성에 따라 액정의 결정성 변화를 살피기 위해 DSC를 사용하여 상전이 온도와 엔탈피 값을 측정하였다(Figure 4). HPC 1 g과 에탄올 0.8 g을 혼합하여 고온에서 용융시킨 후 상온에 두면 액정을 형성한다. 다시 온도를 51.7 °C 이상으로 높이면 액정이 서서히 녹으면서 투명한 상태가 되고, 이러한 열방성 특성의 액정이 용융되는 과정에서 측정된 엔탈피 값은 대략 43.6 J/g로 나타났다. HPC 1 g, 에탄올 0.8 g, NA solution 1 g을 혼합하여 만든 수화 액정은 54.4 °C에서 상전이 피크가 나타났다. 앞서 열방성 액정과는 달리 수화 액정은 100 °C 가까이 온도를 크게 높여도 액정이 투명하게 변하지 않고, 다만 액정이 좀 더 유동성 있는 상태로 변하게 된다. 이는 수화 액정이 배열 정연한 상태의 겔(highly ordered gel state, L_β)에서, 라멜라 구조는 그대로 유지하면서 지질의 acyl chain만이 무질서해지는 trans/gauche rotational isomerization 상태(L_α)로 상전이가 일어나는 것이다[15].

HPC에 여러 종류의 EA를 혼합한 수화 액정을 만들고, 이들 수화 액정의 L_β - L_α 상전이 피크를 비교하여 Figure 5에 나타내었다. 상전이 피크의 모양이나 전이 엔탈피 값으로부터 액정의 결정성에 대한 상대적인 비교가 가능하다. 4종류의 EA 중 TW, LY, SD는 HPC와 혼합하였을 때, 액정의 상전이 피크도 단일 피크로 나타나고 상전이 엔탈피 값도 HPC 단독일 때 36.6 J/g에 비하여 크게 감소하지 않았다.

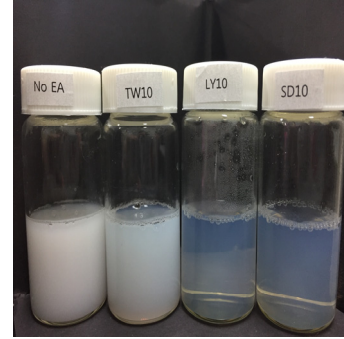


Figure 7. Change in the appearance of hydrated liquid crystalline vesicle solutions with different edge activators.

하지만 CH를 혼합하였을 때는 Figure 5(d)와 같이 더블 피크로 넓은 온도 영역에서 상전이가 일어나고 엔탈피 값도 큰 폭으로 감소하였다. 이러한 결과로부터 CH가 다른 EA에 비해 HPC의 액정 배열을 방해하고 액정의 결정성을 떨어뜨리는 물질임을 알 수 있다.

HPC에 EA를 혼합하여 베시클을 만들었을 때, EA의 종류와 비율에 따른 베시클 입자 크기의 변화를 Figure 6에 비교하여 나타내었다. EA없이 HPC로만 만든 베시클의 입자는 180 nm가 넘는 크기로 나타났지만 EA로 LY나 SD를 5 wt% 이상 혼합하면 베시클 입자 크기가 크게 감소하면서 100 nm보다 작은 수십 나노 크기로 나타났다. LY, SD와 마찬가지로 TW를 혼합하면 HPC 단독일 때보다 베시클 입자 크기가 작아지지만 100 nm 이하로 입자 크기가 작아지기 위해서는 TW 함량을 15 wt% 이상 혼합하여야 한다. 이런 현상은 계면활성제의 분자 크기 및 집합체를 형성했을 때의 곡률로부터 설명이 가능해진다[16]. 계면활성제는 친수성 소수성 분자 간 상대적 크기에 따라서 다른 packing parameter 값을 가지는데, 이 값으로부터 어떤 집합체 구조를 형성하는지 예상할 수 있다. Packing parameter 값이 작을수록 구에 가까운 형태로 나타나고, 비교적 더 작은 입자를 만들게 된다. 베시클 막 주성분인 HPC는 1에 가까운 packing parameter 값을 가져 planar bilayer를 구성하기가 쉽다[17]. Packing parameter 값이 작은 EA를 HPC에 적절히 혼합하여 베시클을 만들게 되면, 베시클의 곡률이 커지면서 더 작은 크기의 베시클 형성이 가능해진다. TW으로만 이루어진 입자는 구 모양(sphere shape)을 이루고, SD로만 이루어진 입자는 더 넓어진 타원체 모양(prolate ellipsoidal shape)을 이룬다. 하지만, TW의 긴 polyoxyethylene 구조에 의해 유체역학적 반지름(hydrodynamic radius)이 크기 때문에 TW 보다는 SD나 LY가 베시클의 입자를 줄이는데 더 효과적이다[18]. CH는 다른 EA와 달리 HPC에 혼합할수록 입자 크기가 더욱 커지는 결과가 나타났다. 앞서 DSC 결과에서도 CH는 HPC의 액정 배열에 영향을 크게 미치는 것으로 나타났는데, CH는 소수성이 강한 4개의 링 구조가 HPC의 두 지방산 사슬과 서로 얽혀진 이중층(interdigitated bilayer)을 구성하기 때문에 액정 배열이 조밀하게 이루어지지 못하고 베시클 입자가 크게 형성된다.

HPC에 EA를 혼합했을 때 베시클 현탁액의 외관 변화를 Figure 7에 나타내었다. HPC로 베시클을 만든 경우 일반적인 유백색의 불투명한 현탁액이 되지만, EA를 혼합한 베시클의 현탁액은 불투명 효과가 나타나는 반투명 용액에 가까워진다. 앞서 Figure 6에서 확인한대로 EA를 혼합한 베시클들은 입자 크기가 가시광선의 1/4인 100 nm 이하로 작아지기 때문에 이들이 분산된 현탁 용액의 투명도가 높아진다.

베시클 입자의 표면 전하는 현탁 용액의 안정성에 영향을 주는 중요한 변수가 되는데[6], EA의 혼합이 베시클의 표면전하에 미치는 영

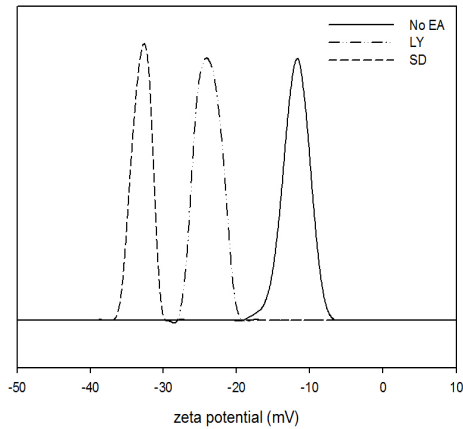


Figure 8. Effect of edge activator on the zeta potential of hydrated liquid crystalline vesicles.

향을 살펴보기 위해 zeta potential을 측정하였다(Figure 8). HPC 단독으로 베시클을 만들었을 때보다 EA를 혼합하면 zeta potential 값이 더 큰 음전하 값으로 나타났다. HPC의 극성머리 부분은 phosphatidyl기와 choline기에 의해 -와 + 전하 모두를 지니고 있지만 물속에서 극성머리 부분은 지방산 꼬리 쪽을 향해 굽어지고 이때 choline기의 + 전하는 지방산에 가려지므로 베시클의 입자 표면은 상대적으로 약한 음전하를 띠게 된다[19]. 음이온 계면 활성제인 SD가 베시클에 첨가되거나 또는 지방산이 하나여서 HPC에 비해 강한 극성을 띠는 LY를 혼합하면 베시클 입자는 더욱 큰 음의 표면전하를 띠게 되어 입자끼리의 반발력이 더욱 크게 작용하고 응집현상을 방지해 분산 안정성이 높아지게 된다.

NA를 베시클에 포집시켰을 때 피부 침투가 얼마큼 향상되는지 확인하기 위해 돼지 피부를 사용하여 피부침투 실험을 진행하였고 그 결과를 Figure 9에 나타내었다. NA 수용액으로 직접 도포했을 때에 비하여 NA를 베시클에 포집시켜 도포한 경우에 피부 침투량이 크게 증가하였다. EA가 혼합된 베시클은 피부 침투 효율이 더욱 높아지는데 특히 SD를 10% 혼합하여 만든 베시클은 NA 수용액보다는 4배, HPC 단독 베시클에 비해서는 2배 가까이 NA의 피부 침투량이 높아지는 결과가 나타났다. 일반적으로 어떤 효능 물질의 피부 투과는 주로 피부 각질세포 사이 지질층을 통해 이루어진다. 친수성의 NA가 지질을 주성분으로 만들어진 베시클에 포집되면, 베시클 자체가 피부 지질층과의 친화성이 우수하여 투과가 잘 이루지고 따라서 베시클에 포집된 NA의 피부침투가 증가하게 된다. 또한 베시클은 피부 세포 지질층의 유동성을 증가시키며 외부물질에 대한 방어기능을 약화시키는 역할이 가능하기 때문에 NA의 피부 침투를 도울 수 있다[20,21]. 베시클에 EA가 혼합되면 입자크기가 수십 나노로 더욱 작게 형성되어 피부 각질세포 상의 좁은 지질층 통로를 더욱 효율적으로 침투할 수 있기 때문에 더 많은 함량의 NA 피부 침투가 이루어질 수 있다.

4. 결 론

EA가 혼합된 수화 액정형 베시클의 상전이 현상을 살펴보고 EA가 수화 액정형 베시클의 입자크기, 표면전하, 피부 침투력에 미치는 효과를 비교 분석하였다. 수화 액정상은 54.4 °C에서 L_{β} - L_{α} 상전이가 일어나는데 EA가 혼합되면 상전이 온도와 상전이 엔탈피 값이 다소 감소했다. EA로 TW, LY, SD를 혼합한 경우와 달리 CH를 첨가하면

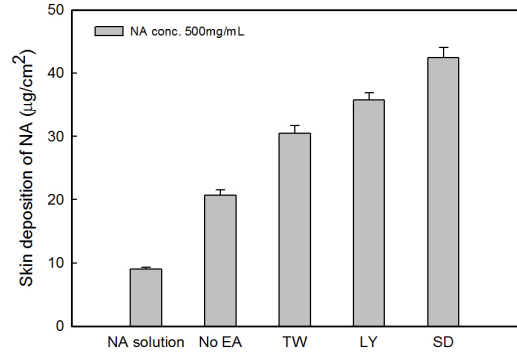


Figure 9. Change in the skin deposition of NA encapsulated in hydrated liquid crystalline vesicles with different edge activators.

수화액정의 결정성을 크게 떨어트리는 결과가 나타났다. 수화 액정형 베시클의 입자는 180 nm가 넘는 크기로 나타났지만 TW, LY, SD를 혼합하면 베시클 입자 크기가 크게 감소하면서 수십 나노 크기로 나타났다. 베시클 막의 표면 전하는 모두 음의 값으로 나타나지만, SD를 혼합한 베시클 막은 더 큰 음전하 값으로 나타나면서 안정성이 가장 뛰어난 것을 확인하였다. 수화 액정형 베시클에 EA가 혼합되면 NA의 피부 침투량이 더욱 높아지는데 특히 SD를 10 wt% 혼합하여 만든 베시클은 NA 수용액보다는 4배, HPC 단독 베시클에 비해서는 2배 가까이 NA의 피부 침투량이 높아지는 결과가 나타났다.

감 사

본 연구는 2015년 동덕여자대학교 학술연구비 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

References

1. D. Verma, S. Verma, G. Blume, and A. Fahr, Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin, *Int. J. Pharm.*, **258**, 141-151 (2003).
2. M. Kirjavainen, A. Urtti, I. Jaaskelainen, T. Suhonen, P. Paronen, R. Valjakka-Koskela, J. Kiesvaara, and J. Monkkonen, Interaction of liposomes with human skin in vitro—the influence of lipid composition and structure, *Biochim. Biophys. Acta*, **1304**, 179-189 (1996).
3. M. Trotta, E. Peira, F. Debernardi, and M. Gallarate, Elastic liposomes for skin delivery of dipotassium glycyrrhizinate, *Int. J. Pharm.*, **241**, 319-327 (2002).
4. M. M. Elsayed, O. Y. Abdallah, V. F. Naggar, and N. M. Khalafallah, Lipid vesicles for skin delivery of drugs: Reviewing three decades of research, *Int. J. Pharm.*, **332**, 1-16 (2007).
5. E. Touitou, N. Dayan, L. Bergelson, B. Godin, and M. Eliaz, Ethosomes—novel vesicular carriers for enhanced delivery: Characterization and skin penetration properties, *J. Control. Release*, **65**, 403-418 (2000).
6. I. M. Aldulbaqi, Y. Darwis, N. A. K. Khan, R. A. Assi, and A. A. Khan, Ethosomal nanocarriers: The impact of constituents and formulation techniques on ethosomal properties, in vivo studies, and cliNAal trials, *Int. J. Nanomed.*, **11**, 2279-2304 (2016).
7. E. Touitou, B. Godin, and C. Weiss, Enhanced delivery of drugs

- into and across the skin by ethosomal carriers, *Drug Dev. Res.*, **50**, 406-415 (2000).
8. M. Bragagni, N. Mennini, F. Maestrelli, M. Cirri, and P. Mura, Comparative study of liposomes, transfersomes and ethosomes as carriers for improving topical delivery of celecoxib, *Drug Deliv.*, **19**, 354-361 (2012).
 9. M.-I. Yeh, H.-C. Huang, J.-H. Liaw, M.-C. Huang, T.-H. Wu, K.-F. Huang, and F.-L. Hsu, Ethosomes in hair dye products as carriers of the major compounds of black tea extracts, *Int. J. Dermatol.*, **52**, 868-875 (2013).
 10. C. K. Song, P. Balakrishnan, C.-K. Shim, S.-J. Chung, S. Chong, and D.-D. Kim, A novel vesicular carrier, transethosome, for enhanced skin delivery of voriconazole: Characterization and in vitro/in vivo evaluation, *Colloids Surf. B*, **92**, 299-304 (2012).
 11. S. M. Lee, M. J. Choi, Y. M. Lee, and B. S. Jin, Preparation and characterization of ethosome containing hydrophobic flavonoid luteolin, *Appl. Chem. Eng.*, **21**, 40-45 (2010).
 12. Y. M. Lim, Y. K. Jun, S. Park, and B. S. Jin, Coencapsulation of L-ascorbic acid and α -Tocopherol in ethosomes their properties, *Appl. Chem. Eng.*, **25**, 368-373 (2014).
 13. B. S. Jin, S. M. Lee, and K. H. Lee, A study on the factors affecting entrapment efficiency and particle size of ethosomes, *Appl. Chem. Eng.*, **17**, 138-143 (2006).
 14. N. Heldt, J. Zhao, S. Friberg, Z. Zhang, G. Slack, and Y. Li, Controlling the size of vesicles prepared from egg lecithin using a hydrotrope, *Tetrahedron*, **56**, 6985-6990 (2000).
 15. G. El Maghraby, A. Williams, and B. Barry, Interactions of surfactants (edge activators) and skin penetration enhancers with liposomes, *Int. J. Pharm.*, **276**, 143-161 (2004).
 16. S.-H. Tung, Y.-E. Huang, and S. R. Raghavan, A new reverse wormlike micellar system: Mixtures of bile salt and lecithin in organic liquids, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 5751-5756 (2006).
 17. D. H. Bae and J. S. Shin, Silicone Nanoemulsion stabilized with hydrogenated lecithin, *Appl. Chem. Eng.*, **11**, 522-528 (2000).
 18. J. Bhattacharjee, G. Verma, V. Aswal, A. A. Date, M. S. Nagarsenker, and P. Hassan, Tween 80 - Sodium deoxycholate mixed micelles: Structural characterization and application in doxorubicin delivery, *J. Phys. Chem. B*, **114**, 16414-16421 (2010).
 19. M. N. Jones, The surface properties of phospholipid liposome systems and their characterization, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **54**, 93-128 (1995).
 20. M. Jadupati, G. Amites, and N. A. Kumar, Transfersome: An opportunistic carrier for transdermal drug delivery system, *Int. Res. J. Pharm.*, **3**, 35-38 (2012).
 21. G. M. M. El Macghraby, A. C. Williams, and B. W. Barry, Skin hydration and possible shunt route penetration in controlled estradiol delivery from ultradeformable and standard liposomes, *J. Pharm. Pharmacol.*, **53**, 1311-1322 (2001).