

아데노신을 포집한 나노 플렉시블 베시클 제조 및 다구찌 방법에 의한 조성의 최적화

이서영 · 진병석[†]

동덕여자대학교 화학 · 화장품학부
(2019년 6월 8일 접수, 2019년 7월 4일 심사, 2019년 7월 18일 채택)

Preparation of Nano Flexible Vesicles Encapsulating Adenosine and Composition Optimization by Taguchi Method

Seo Young Lee and Byung Suk Jin[†]

Division of Chemistry and Cosmetics, Dongduk Women's University, Seoul 02784, Korea
(Received June 8, 2019; Revised July 4, 2019; Accepted July 18, 2019)

초 록

주름 개선을 위한 활성물질인 아데노신의 경피 투과를 위해 나노 플렉시블 베시클에 포집을 시도하였다. 나노 플렉시블 베시클은 인지질, 에탄올, lysolecithin으로 구성되는데, 수화 과정에서 형성된 액정 상을 물속에 분산시켜 만드는 액정형 베시클이다. 본 연구에서는 베시클 입자크기에 영향을 미치는 요인을 알아보기 위하여 실험계획법 중 하나인 다구찌 방법을 적용하였다. 다구찌 직교 배열을 활용하여 베시클 입자크기에 대한 망소 특성의 S/N 비를 산출하였다. 베시클 구성성분에서 에탄올과 lysolecithin 비율, 수화 과정에서 투입되는 수용액 양 등이 베시클 입자크기에 큰 영향을 미치는 주요 인자들이고, ANOVA 분석을 통해 이들 인자가 신뢰수준 95%에서 유의함을 확인하였다.

Abstract

Nano flexible vesicles encapsulating an adenosine, an active ingredient for anti-wrinkle, were prepared for the transdermal delivery. The nano flexible vesicle is usually composed of phospholipid, ethanol, and lysolecithin, which is a type of liquid crystalline one made by dispersing the liquid crystalline phase formed through a hydration process into a water phase. In this study, the Taguchi method, one of the experimental design methods, was applied to investigate the factors affecting the vesicle droplet size. Signal to noise (S/N) ratios for the smaller the better characteristics of vesicle droplet size were calculated using the Taguchi orthogonal array. The composition of ethanol and lysolecithin in the vesicle constituents and the amount of aqueous solution added in the hydration process were main factors that had a great effect on the vesicle droplet size and ANOVA test showed that these factors were significant at 95% confidence level.

Keywords: Nano flexible vesicle, Adenosine, Taguchi method, ANOVA test

1. 서 론

피부의 각질층은 피부를 보호하고 외부 물질의 피부 침투를 방어하는 장벽 역할을 수행하고 있다. 이로 인해, 화장품에 쓰이는 피부 활성물질 대부분은 피부 내부로 흡수가 어렵고 피부 표면에 그대로 남아 효능을 제대로 발휘하기 어려운 경우가 많다. 화학적 피부투과 증진제(chemical permeation enhancer)를 사용하면 각질층의 장벽기능이 약화되면서 활성물질의 피부 흡수를 높일 수는 있지만, 이는 피부 자극을 유발하고 피부 장벽기능의 손상을 일으키는 등 피부에 안전하지 못하기 때문에 오랜 기간 매일 반복적으로 사용하는 화장품에는 사용

이 어렵다. 따라서 화장품에는 피부에 안전한 인지질로 만들어지는 베시클(vesicle)을 피부투과 흡수 증진을 위한 소재로 활용하고 있는데 가장 대표적인 예로 리포솜(liposome)을 들 수 있다[1,2]. 하지만 리포솜은 물리 화학적 안정성이 취약할 뿐 아니라 낮은 포집 효율, 높은 제조 단가 등의 단점이 있고, 무엇보다도 피부투과 효능이 그리 확실하지 않은 것으로 보고되고 있다[3,4].

피부투과 효능을 높이기 위해 리포솜을 개선한 transfersome, ethosome이 새로 제안되었다. Transfersome은 인지질에 edge activator라고 불리는 계면활성제를 혼합하여 만들어지는 베시클로, 곡률 반경이 큰 구조를 갖는 edge activator는 베시클의 지질 이중층 막을 약화시켜 베시클 막의 변형이 쉽게 일어날 수 있도록 유도하고 있다[5]. Toutou가 개발한 ethosome은 에탄올에 인지질을 녹인 후 이를 물에 분산시켜 만들어지는데, ethosome에 함유된 에탄올이 각질층 세포의 지질층에 접근하여 지질의 용점(Tm)을 낮추면서 지질층의 유동성을 증가시키고 견고한 구조의 각질층 장벽 막을 느슨하게 만들어 결국에는 ethosome

[†] Corresponding Author: Dongduk Women's University,
Division of Chemistry and Cosmetics, Seoul 02784, Korea
Tel: +82-2-940-4513 e-mail: bsjin@dongduk.ac.kr

의 투과 효능을 높이게 된다[6,7].

Transfersome과 ethosome의 뛰어난 피부투과 침투 효능에 대한 여러 논문 발표[8-10]에도 불구하고, transfersome은 효능 성분의 낮은 포집효율과 제조 과정 중에 유기 용매사용, 높은 제조 단가의 문제를 지니고 있으며, ethosome의 경우에는 물리적 안정성이 낮고 에탄올 성분을 비교적 많이 함유(20~45%)하기 때문에 피부에 적용하기 어려운 한계를 지니고 있다[11]. 본 연구진도 기존 ethosome 제조 공정을 개선하여, 수화 과정을 통하여 lyotropic 라멜라 액정 배열을 유도한 후, 이 액정을 rotational isomerization 상태에서 물속에 분산시키는 비교적 간단한 2단계 공정으로 수화 액정형 베시클을 개발하였다. 이 공정을 통해 에탄올 양을 최소화(5% 이내)하고 리포솜 대비 상당히 높은 포집 효율로 수용성, 지용성의 여러 효능 성분의 포집을 시도하였다[12-14].

본 연구에서는 주름 개선용 피부 활성물질인 아데노신(adenosine)의 피부 내 투과흡수를 위하여 아데노신을 포집한 나노 플렉시블 베시클(nano flexible vesicle)을 제조하였다. 나노 플렉시블 베시클은 수화 액정형 베시클의 일종으로, edge activator로는 lysolecithin을 사용하고, 아데노신의 용해도를 높이기 위해 hydrotrope로 니아신 아마이드(niacinamide)를 사용하였다. 나노 플렉시블 베시클의 피부투과 효능을 높이기 위해서는, 피부 각질층 세포 사이의 좁은 틈을 잘 통과할 수 있도록, 베시클 입자가 나노 사이즈로 아주 작게 만들어져야 한다. 나노 플렉시블 베시클의 입자 사이즈는 베시클을 구성하는 성분 비율이나 제조 방법 등에 따라 크게 달라지는데, 본 연구에서는 베시클 입자 사이즈에 크게 영향을 미치는 요인들을 분석하기 위하여 실험계획법 중 하나인 다구찌 방법을 사용하였다.

다구찌 방법은 특성 최적화를 위한 분석 방법으로, 직교 배열표(table of orthogonal array)를 사용한 일부 실시법을 통해 실험횟수를 최소화 할 수 있으며, 손실함수(loss function)와 신호 대 잡음비(S/N 비)를 도입하여 영향력이 강한 인자들의 최적 조합으로 특성을 향상시킬 수 있는 수단을 제공한다[15,16]. 본 연구에서는 S/N 비뿐만 아니라 ANOVA (analysis of variance) 분석을 함께 사용함으로써 특정 신뢰 수준에서 오차의 추정치와 평균 제곱을 비교하였다. 이를 통해 베시클의 입자 사이즈에 미치는 인자들의 영향력을 살펴보고, 이를 바탕으로 인자들을 최적으로 조합한 나노 플렉시블 베시클을 구성하여 재현성 검증을 실시하였다.

2. 실험

2.1. 나노 플렉시블 베시클 제조 및 입자 분석

베시클의 주성분으로 사용된 인지질은 phosphatidyl choline 성분이 95% 이상인 Emulmetik 950 (hydrogenated phosphatidyl choline, 이하 HPC로 표기)이며 Lucas Meyer사의 제품을 사용하였다. Edge activator로 사용되는 lysolecithin (이하 LL 표기)은 Kyowa Hakko사의 제품을 사용하였고 베시클 내로 포집되는 효능 물질인 아데노신, 니아신 아마이드는 Sigma-Aldrich사의 제품을 사용하였다. 나노 플렉시블 베시클은 소량의 에탄올에 HPC와 LL 혼합물을 녹인 후 수용액을 첨가하여 수화 액정상을 만들고 이를 물속에 분산시켜 만든 수화 액정형 베시클인데 좀 더 구체적으로 다음과 같이 제조되었다. HPC, LL 혼합물(1 g)과 에탄올(0.8 or 1.2 g)을 등근 바닥 플라스크에 넣은 후, 플라스크 입구를 마개로 막고 60 °C 항온조에서 투명한 졸(sol) 상태가 될 때까지 완전히 용해시킨다. 투명한 상태의 졸 용액에 아데노신과 니아신 아마이드가 용해된 수용액(1 or 1.92 g)을 넣고 유백색의

Table 1. Design Factors and Levels for Analysis

Design factor	Symbol	Level of factor	
		1	2
R (ethanol / total lipid)	A	0.8	1.2
Adenosine concentration in solution	B	6.3	9.4
R (added aqueous solution / total lipid)	C	1.00	1.92
R (LL / total lipid)	D	0.10	0.15

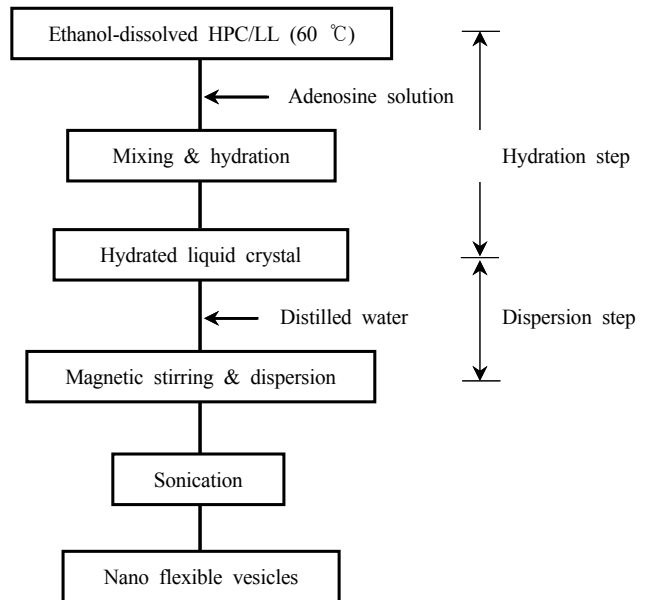


Figure 1. Process scheme for the preparation of nano flexible vesicles encapsulating adenosine.

수화 액정상이 형성될 때까지 1 min 이상 자석 교반시킨다. 자석 교반이 계속 진행되는 상태에서 수화 액정상에 정량용액 펌프를 이용해 증류수를 한 방울씩 서서히 첨가하면 수화 액정상이 베시클 형태의 입자로 물속에 분산이 된다. 분산 용액을 비커에 옮긴 후, 상온에서 2 min 간 초음파를 가하고 상온으로 식히면 균일한 입자 사이즈의 나노 플렉시블 베시클이 완성된다. 실험계획법을 통해 설계된 조건에 따라 나노 플렉시블 베시클의 성분 구성 비율을 정하여 제조하였고 Figure 1에 제조 과정을 요약하였다. 제조된 나노 플렉시블 베시클의 형태는 cryo-TEM (Tecnai F20, FEI Tech.사)으로 관찰하고, 입자크기는 레이저광의 동적산란을 이용하여 입자 사이즈를 분석하는 입도분석기(ELSZ-2000, Otsuka Elec.사)를 사용하여 측정하였다.

2.2. 실험계획법

실험계획법을 통해 나노 플렉시블 베시클의 특성에 미치는 인자들을 분석하고 최적의 제조 조건을 살펴보았다. 베시클의 특성값을 입자 사이즈로 설정하고, 실험 인자로는 에탄올 비율, 아데노신 수용액 농도(%), 수용액 첨가량, LL의 비율 등 4가지를 선정하였다. 실험 인자 중 아데노신 수용액 농도를 제외한 나머지 3가지 인자는 혼합 지질 전체 양 대비 비율(wt/wt)로 표시하고, 각 실험 인자에 대한 수준값은 2로 Table 1과 같이 설정하였다. 실험 인자는 예비 실험을 통해 가장 영향력이 클 것으로 예상되는 인자들을 선택하여 결정하였고, 각 인자들의 수준값 역시 실험 가능한 범위의 최저치와 최고치 사이에서

Table 2. Orthogonal Array $L_8(2^7)$ for Analysis

Exp. No.	Column number							Process condition
	1	2	3	4	5	6	7	
1	1	1	1	1	1	1	1	$A_1B_1C_1D_1$
2	1	1	1	2	2	2	2	$A_1B_1C_2D_2$
3	1	2	2	1	1	2	2	$A_1B_2C_1D_2$
4	1	2	2	2	2	1	1	$A_1B_2C_2D_1$
5	2	1	2	1	2	1	2	$A_2B_1C_1D_1$
6	2	1	2	2	1	2	1	$A_2B_1C_2D_2$
7	2	2	1	1	2	2	1	$A_2B_2C_1D_2$
8	2	2	1	2	1	1	2	$A_2B_2C_2D_1$
Factor assignment	A	B	$A \times B$	C	$A \times C$	D	$A \times D$	

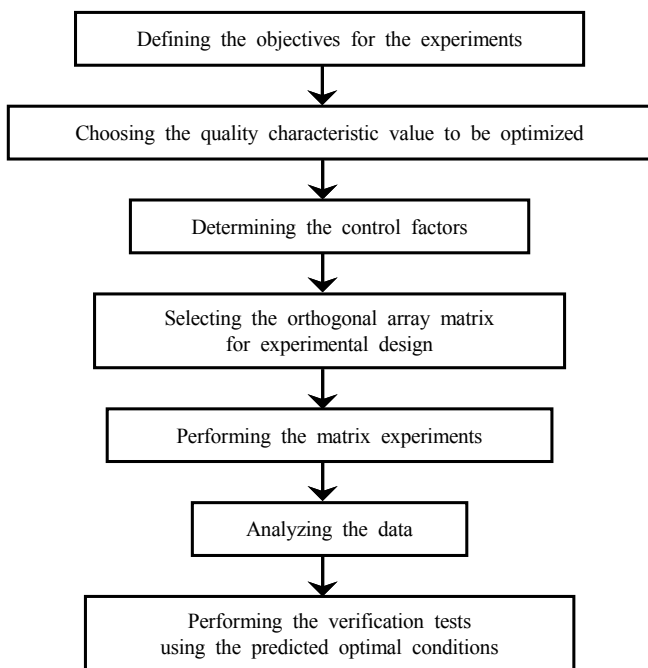


Figure 2. Flowchart for experimental design.

중간값을 선택하여 결정하였다. 앞서 결정된 4개의 인자 외에도 에탄올과 다른 인자 간의 상호작용을 고려하여 직교 배열표 $L_8(2^7)$ 에 주효과(A~D)와 교호작용 효과($A \times B$, $A \times C$, $A \times D$)를 Table 2와 같이 실험배치를 하였다. Figure 2에 실험계획법 과정의 순서도를 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 나노 플렉시블 베시클

HPC와 LL 혼합지질에, 소량의 에탄올을 첨가하여 60 °C 이상의 온도로 가저가면 혼합물은 투명하게 용해된 상태가 된다. 투명하게 용해된 혼합물의 온도를 다시 상온으로 낮추면 HPC와 LL 지질 분자들이 배열을 하면서 액정이 형성되는데, 이렇게 온도에 따라 액정 형성이 결정되는 특성을 지닌 것을 열방성(thermotropic) 액정이라고 한다. 온도를 내리는 대신에 수용액을 첨가해도 액정이 형성된다. 이는 비용

매(non-solvent)로 작용하는 수용액 첨가로 에탄올이 희석되면서 용해력이 떨어지고 이로 인해 지질 분자들의 배열이 일어나기 때문에 만들어지게 된다. 이 액정은 용매인 에탄올 농도에 의존하기 때문에 유방성(lyotropic) 특성을 지닌 액정이기도 하지만, 또한 수용액의 첨가에 의하여 액정이 형성되었기 때문에 수화 액정(hydrated liquid crystal)으로도 볼 수 있다. 수화 액정은 지질 이중층(bilayer)과 수용액 층이 교대로 배열된 라멜라(lamella)형 구조의 액정 상으로 젤(gel)과 같은 특성의 외관을 보인다. 이러한 수화 액정 상에 물을 계속해서 서서히 첨가하면서 전단력을 가하게 되면, 라멜라형 구조가 깨지면서 지질 이중층은 구형의 베시클 입자 형태로 물속에 분산이 이루어진다[14].

수화 액정을 만들 때 첨가되는 수용액에 어떤 특정 효능물질이 용해되어 있기 때문에, 최종적으로 완성되는 베시클은 그 특정 효능물질을 포함한 상태로 만들어지게 된다. 따라서 베시클에 포함되는 효능물질의 양을 높이기 위해서는, 효능물질을 물에 최대한 많이 용해시켜 수용액의 농도를 높이는 것이 중요하다. 본 연구에 효능물질로 사용하는 아데노신은 상온에서 물에 대한 용해도가 5~8 mg/mL 정도로 매우 낮는데, 이렇게 낮은 농도의 수용액으로 베시클을 만들게 되면, 베시클에 포함되는 양이 너무 적어 경제성이 떨어지게 된다. 따라서 아데노신의 용해도를 좀 더 높이기 위한 방안으로 나이아신 아마이드를 hydrotrope로 사용하게 되었다. 이때, hydrotrope 특성을 지닌 나이아신 아마이드는 극성 부분과 비극성의 말단을 가지고 계면활성제처럼 행동하여 아데노신의 비극성을 나타내는 부분의 주위에 배열되면서 극성 용매에 분산될 수 있기 때문에 혼합물의 용해도 및 안정성을 향상시키게 된다[17,18]. Figure 3은 물에 나이아신 아마이드의 첨가량을 증가시켜 수용액의 농도를 높여갈 때, 아데노신의 용해도 증가를 나타내는 결과이다. 상온에서 아데노신은 순수한 물 1 mL 당 0.005 g 정도의 용해도를 나타내지만, 나이아신 아마이드를 0.85 g 첨가한 수용액에서는 용해도가 0.14 g까지 크게 증가하였다. 온도를 60 °C까지 높일 경우에는 나이아신 아마이드를 1.3 g 첨가한 수용액에서 아데노신의 용해도를 최대 0.3 g까지 증가시킬 수 있었다. 나이아신 아마이드로 아데노신의 용해도를 높인 수용액을 지질 혼합물에 첨가하여 수화 액정을 만들고, 이를 다시 물속에 분산시켜서 만들어진 나노 플렉시블 베시클을 cryo-TEM으로 관측하였다. Figure 4에서 보듯이 구형의 베시클이 비교적 잘 형성된 것을 확인할 수 있었다.

3.2. 다구찌 방법에 의한 실험계획법 적용

직교 배열표에 따른 8가지 실험조건으로 베시클을 제조한 후, 각 실

Table 3. Droplet Size and S/N Ratio of Vesicles with Different Process Conditions

Exp. No.	Process condition				Droplet size (nm)			S/N ratio
	A	B	C	D	#1	#2	#3	
1	0.8	6.3	1.00	0.10	235	249	266	-48.0
2	0.8	6.3	1.92	0.15	520	392	380	-52.7
3	0.8	9.4	1.00	0.15	390	336	354	-51.1
4	0.8	9.4	1.92	0.10	905	1,199	1,085	-60.5
5	1.2	6.3	1.00	0.10	1,147	1,261	1,215	-61.6
6	1.2	6.3	1.92	0.15	919	1,160	1,166	-60.7
7	1.2	9.4	1.00	0.15	435	395	386	-52.2
8	1.2	9.4	1.92	0.10	2,231	1,936	1,898	-66.1

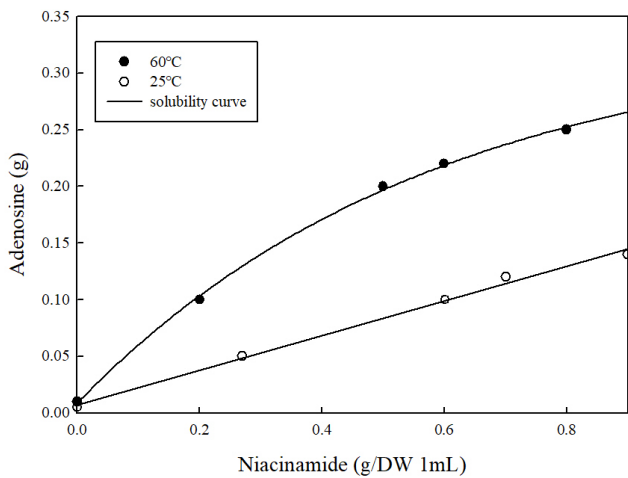


Figure 3. Solubility curve of adenosine with niacinamide concentration at 25 and 60 °C.

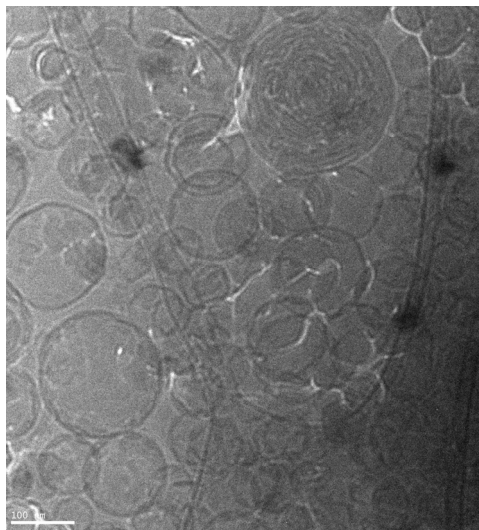


Figure 4. TEM image of nano flexible vesicles encapsulating adenosine.

험조건별로 제조된 베시클의 입자 크기를 측정하였다. Table 3에 실험조건별 베시클 입자 크기의 측정된 값과 이 입자 크기로부터 계산된 S/N 비를 정리하였다. 베시클 입자 크기는 실험을 3번 반복

Table 4. Average Value of S/N Ratio of Each Factor at Level 1 and 2

	Factors			
	A	B	C	D
Level 1	-53.1	-55.8	-53.2	-59.1
Level 2	-60.2	-57.5	-60.1	-54.2
Delta	7.1	1.7	6.9	4.9
Rank	1	4	2	3

실시하여 측정되었다. S/N 비는 다구찌가 제안한 $S/N \text{ ratio} = -10 \log_{10}(\text{MSD})$ 의 관계식으로 계산되는데, 여기서 MSD (mean squared deviation)는 특성의 목표값으로부터의 평균 제곱 편차를 뜻하는 것으로 본 연구에서 베시클은 입자 크기가 작을수록 피부투과에 유리하므로 망소(smaller-the-better) 특성을 나타내는 아래 식으로 계산되었다.

$$MSD = \frac{(y_1^2 + y_2^2 + y_3^2 + \dots)}{n} \tag{1}$$

y_n : 측정된 베시클 입자 크기

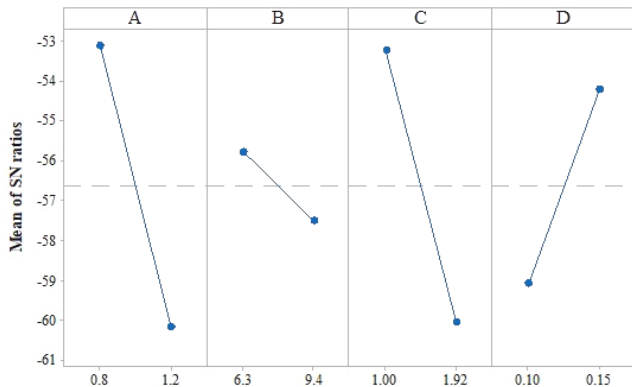
n : 반복 실험횟수

실험조건별 얻어진 S/N 비 값에 대하여, 배치된 각 인자들을 1, 2수준별로 분리하고 나서 수준별 평균값을 구하였다. 그리고 인자별 두 수준의 평균값 간 최대와 최소 차이(delta)를 정리해서 Table 4에 나타내었다. 각 인자의 1, 2수준 간 delta 값을 비교해 보면 A, C, D 인자 순으로 delta 값이 크게 나타나고, B 인자가 가장 작게 나타났다. Delta 값이 크게 나타나는 인자일수록 베시클 입자 크기에 미치는 영향력이 크다. 따라서 A 인자인 에탄올 비율이 베시클 입자 크기에 미치는 영향력이 가장 크고, B 인자인 아데노신 농도는 영향력이 크지 않은 결과로 나타났다. Figure 5는 A~D 인자의 1, 2수준별 S/N 비 평균값의 차이를 나타낸 그림으로, 각 인자별 S/N 비 값이 큰 쪽을 선택하는 것이 베시클 입자 크기를 작게 만드는 최적의 조건이 된다.

Figure 6는 A 인자와 다른 B~D 인자 간 상호 작용이 있는지 교호 작용 효과를 살펴본 결과이다. Figure 6의 가로축은 인자 A~D 각각의 두 수준을 나타내고, 세로축은 두 인자 간 수준 조합에서의 S/N 비를 나타낸다. 두 인자 간 수준별 S/N 비를 잇는 직선에서 교차가 발생하면, 두 인자는 서로 독립적이지 않고 인자 간 상호작용이 있는 것으로 말할 수 있다. 2행 1열 그림을 보면 B 인자의 1수준(6.3)과 2수준(9.4)

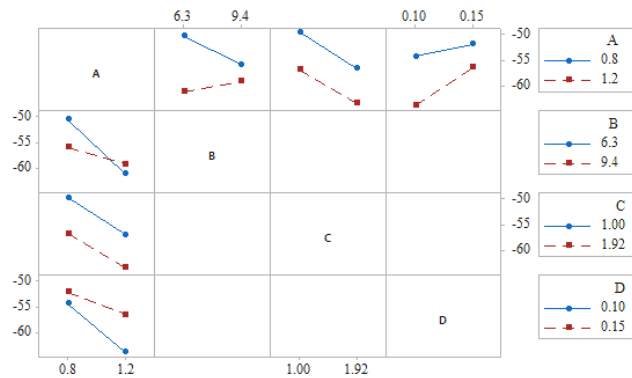
Table 5. Results of ANOVA Analysis with S/N Ratio

Factor	SS	DF	MS	F ₀	F (0.05)	P
A	99.45	1	99.45	557.28	161	0.03
B	5.97	1	5.97	33.48	161	0.11
C	93.19	1	93.19	522.19	161	0.03
D	47.64	1	47.64	266.94	161	0.04
A × B	28.33	1	28.33	158.74	161	0.05
A × D	13.12	1	13.12	73.54	161	0.07
Error	0.18	1	0.18			
Total	287.88	7				



Signal-to-noise : Smaller is better

Figure 5. Main effect plots for S/N ratio.



Signal-to-noise : Smaller is better

Figure 6. Interaction plots for S/N ratio.

의 직선이 A 인자의 1수준(0.8)과 2수준(1.2) 사이에서 서로 교차가 일어나고, 나머지 그림에서는 교차되는 직선이 없다. 따라서 A 인자는 B 인자 사이에서만 교호작용이 존재하고 C, D 인자와는 교호작용이 없이 독립적임을 알 수 있다.

베시클 입자의 S/N 비 값을 이용해서 ANOVA 분석을 실시한 결과를 Table 5에 정리하였다. 앞서 가장 작은 delta 값을 나타낸 A × C 인자를 오차항으로 배치시키고, 나머지 각 인자별 1수준, 2수준 S/N 비의 합으로부터 각 인자의 제곱합(SS, sum of square) 및 평균 제곱합(MS)을 구하였고, 이로부터 각 인자별 F₀ 값을 구하였다. 이 결과를 통해 에탄올 비율(A 인자), 수용액 첨가량(C 인자), LL의 비율(D 인

Table 6. Comparison between Predicted and Experimental Values

	Optimal condition (A ₁ B ₁ C ₁ D ₂)	
	S/N ratio	size (nm)
Predicted value	-46.4	214
Experimental value	-47.0	225

자) 등이 베시클 입자 크기에 영향을 주는 인자로 신뢰수준 95%에서 유의함을 확인하였다.

3.3. 최적조건에서의 재현성 검증

Figure 5의 결과로부터 A~C 인자는 모두 1수준으로, D 인자는 2수준으로 선택하면 최적조건이 된다. 최적조건(A₁B₁C₁D₂)으로 베시클을 제조하였을 때, 베시클 입자 크기가 어느 정도 더 작게 만들어 질 수 있는지 예측값을 구하고 실제 실험값과 비교하여 보았다. 최적조건에서의 S/N 비 예측값은 식 (2)로 구하였다.

$$[S/N]_{\text{predictive value}} = [S/N]_{\text{ave}} + \sum_{i=1}^n ([S/N]_i - [S/N]_{\text{ave}}) \quad (2)$$

[S/N]_{ave}: 전체 평균 S/N 비

n: 인자 개수

[S/N]_i: 각 인자별 최적조건에서의 S/N 비

위 식을 통해 구한 예측값과 실험에서 측정된 값을 Table 6에 나타내었다. 예측된 S/N 비 값은 -46.4이었고 이 값에 해당하는 입자 크기를 망소 특성 식에 대입하여 구했을 때, 예측되는 베시클 입자 크기는 214 nm 값을 얻게 된다. 최적조건으로 베시클을 제조하여 입자 크기를 측정해 보니 225 nm 크기로 나타나고, 이때의 S/N 비 값은 -47.0이었다. 실험값과 예측값 간 차이가 그리 크지 않고 비교적 잘 일치하는 것으로 볼 수 있다. Table 3에서 S/N 비가 가장 큰 경우가 실험번호 1일 때 -48.0인데, 최적조건으로 베시클을 만들었을 때 얻은 실험값은 -47.0으로 S/N 비가 1.0 증가하였다. 결과적으로 다구찌 방법을 통해 나노 플렉시블 베시클 제조의 최적조건을 찾을 수 있고 이로 인해 품질 특성을 개선할 수 있음을 알 수 있었다.

4. 결 론

나이아신 아미이드를 hydrotrope로 사용하여 피부 활성물질인 아데

노신의 용해도를 높은 수용액을 만들고, 이 수용액을 포집한 나노 플렉시블 베시클을 제조하였다. 제조되는 베시클의 입자 사이즈에 영향을 미치는 인자를 알아보기 위하여, 다구찌 방법을 적용한 실험을 실시하여 각 인자별 S/N 비를 산출하였다. 베시클 구성 성분 중 에탄올과 lysolecithin 비율, 수화 과정에서 투입되는 수용액 양 등이 베시클 입자 사이즈에 영향을 미치는 주요 인자임을 알게 되었고, ANOVA 분석을 통해서도 이들 인자가 신뢰수준 95%에서 유의함을 확인하였다. S/N 비 결과로부터 선택된 최적조건으로 베시클을 제조한 결과, 더 작은 입자 사이즈의 베시클이 만들어졌다. 따라서 다구찌 방법을 적용하면 실험횟수를 줄이면서 나노 플렉시블 베시클 제조의 최적설계가 가능함을 알 수 있었다.

감 사

본 연구는 중소기업부 산학연 협력기술개발사업(과제 고유번호 S2660416)의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. D. J. A. Crommelin and H. Schreier, Liposomes. In: J. Kreuter (ed.), *Colloidal Drug Delivery Systems*, 73-190, Marcel Dekker, New York, USA (1994).
2. D. J. A. Crommelin and G. Storm, Liposomes: From the bench to the bed, *J. Liposome Res.*, **13**(1), 33-36 (2003).
3. A. Sharma and U. S. Sharma, Liposomes in drug delivery: Progress and limitations, *Int. J. Pharm.*, **154**, 123-140 (1997).
4. M. Kirjavainen, A. Urtti, I. Jääskeläinen, T. M. Suhonen, P. Paaronen, R. Valjakka-Koskela, J. Kiesvaara, and J. Mönkkönen, Interaction of liposomes with human skin *in vitro* - the influence of lipid composition and structure, *Biochim. Biophys. Acta*, **1304**(3), 179-189 (1996).
5. G. Cevc and G. Blume, Lipid vesicles penetrate into intact skin owing to the transdermal osmotic gradients and hydration force, *Biochim. Biophys. Acta*, **1104**, 226-232 (1992).
6. E. Toutou, 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).
7. 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).
8. E. Toutou, B. Godin, and C. Weiss, Enhanced delivery of drugs into and across the skin by ethosomal carriers, *Drug Dev. Res.*, **50**, 406-415 (2000).
9. 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).
10. 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).
11. 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).
12. 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).
13. 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).
14. S. Y. Lee, Y. M. Lim, and B. S. Jin, Effect of edge activator on the droplet size and skin permeation of hydrated liquid crystalline vesicles, *Appl. Chem. Eng.*, **28**(6), 679-684 (2017).
15. G. Taguchi, *Introduction to Quality Engineering*, Asian Productivity Organization, Tokyo, Japan (1990).
16. S. R. Rao and G. Padmanabhan, Application of Taguchi methods and ANOVA in optimization of process parameters for metal removal rate in electrochemical machining of Al/5%SiC composites, *Int. J. Eng. Res. Appl.*, **2**, 192-197 (2012).
17. D. Varade and P. Bahadur, Effect of hydrotropes on the aqueous solution behavior of surfactants, *J. Surfactants Deterg.*, **7**, 257-267 (2004).
18. S. T. Kumar, O. Sebastian, and C. R. Sudharson, Efficacy of hydrotropes on the solubility of forskolin in water, *Int. J. App. Pharm.*, **8**, 1-4 (2016).