

# 5(6)-Carboxyfluorescein을 담지한 인지질 리포솜의 제조 및 박테리아 센싱 능력 평가에 대한 연구

## A Study on the Preparation of 5(6)-Carboxyfluorescein-supported Phospholipid Liposomes and Evaluation of Bacterial Sensing Ability

\*Corresponding author

Samsoo Kim  
(sskim@ynu.ac.kr)

한민호, 전재우<sup>1</sup>, 이준영<sup>1</sup>, 신은숙<sup>1</sup>, 김우진<sup>1</sup>, 김삼수\*  
영남대학교 파이버시스템공학과, <sup>1</sup>DYETEC연구원

Minho Han, Jaewoo Jeon<sup>1</sup>, Junyoung Lee<sup>1</sup>, Eunsuk Shin<sup>1</sup>, Woojin Kim<sup>1</sup>,  
and Samsoo Kim\*

Department of Fiber System Engineering, Yeungnam University, Gyeongsan, Korea  
<sup>1</sup>DYETEC Institute, Daegu, Korea

Received December 01, 2021  
Revised December 16, 2021  
Accepted December 21, 2021

Textile Coloration and Finishing  
TCF 33-4/2021-12/338-347  
© 2021 The Korean Society of  
Dyers and Finishers

**Abstract** In the case of occlusive dressings currently used in dressings for burn treatment, it is impossible to confirm the replacement time, so replacement is delayed, resulting in additional infection. To solve this problem, liposomes capable of bacterial sensing were prepared using 5(6)-Carboxyfluorescein, Phosphatidylcholine, 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, Cholesterol, and 10,12-Tricosadiynoic acid. In this study, evaluation of changes in drug encapsulation rate in liposomes according to changes in three types of phosphatidylcholine phospholipids during liposome production, high-performance phosphatidylcholine phospholipids selected through vesicle size analysis, low and high temperature stability evaluation, bacterial sensitization ability evaluation, animals cell responses were assessed.

**Keywords** liposome, lipid vesicle, phospholipid, bacterial sensing, burn wound, occlusive dressing

### 1. 서 론

인간의 신체에는 다양한 원인으로 외상이 발생한다. 그 중 고열에 의해 피부 조직을 손상시키는 화상은 외상 중 가장 대표적인 증상 중 하나이다<sup>1)</sup>. 앞서 언급된 화상은 고온의 고체, 액체, 기체 등 뿐만 아니라 저온, 전기 및 화학 약품 노출되어 피부 조직의 손상을 말한다<sup>2,3)</sup>. 이러한 화상은 환부의 넓이 및 깊이에 따라서 경미한 상태인 1도에서부터 가장 심각한 4도까지 증상을 구분한다<sup>4)</sup>.

화상이 발생된 환부 부위에는 부상의 중증도와 상관없이 외부 환경에 노출 시 박테리아에 의한 추가 감염뿐만 아니라 비

후성 반흔, 반흔 구축, 과색소 침착, 저색소 침착, 관절 부위 강직, 절단 등 각종 합병증 및 기능장애를 초래할 수 있어 초기 응급 처치 및 상처 부위의 관리는 더욱 중요하다<sup>5)</sup>.

과거의 화상 치료는 실생활에서 흔히 접할 수 있는 밴드 혹은 거즈와 같은 건식 드레싱재를 주로 사용해왔지만, 이는 상처 부위를 건조하게 하여 피, 고름, 진물 등 삼출액이 굳어 흉터를 유발한다<sup>6)</sup>. 이와 같은 문제로, 현재는 습윤성 드레싱재의 개발 및 연구로 인해 과거의 건식 드레싱재보다 습윤성 드레싱재의 사용이 증가하고 있다<sup>6,7)</sup>.

습윤성 드레싱재는 건식 드레싱재와 동일하게 상처 부위의 오염 방지 및 보호를 하여 추가 감염을 막아주는 특징이 있으며, 습윤성과 적절한 투습성능으로 인해 상처에 적합한 습도를 지니

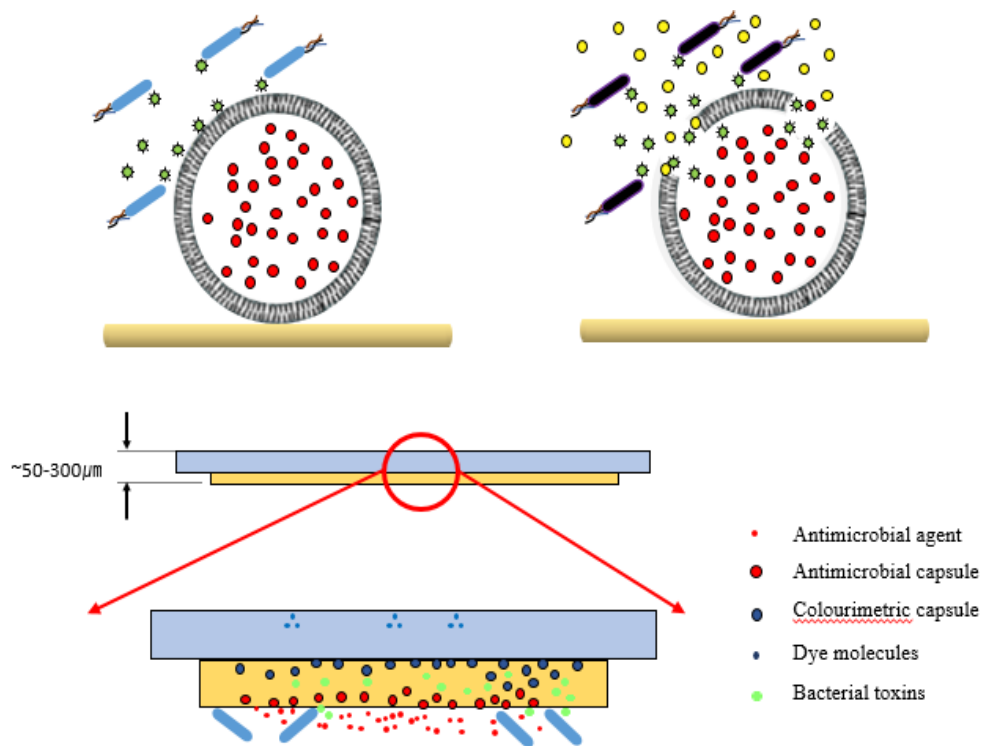


Figure 1. Mechanism of liposome for smart dressing.

게 하여 원활한 세포 성장을 통해 상처 회복의 도움을 준다<sup>7)</sup>. 또한 습윤 상태를 유지함으로써 딱지가 발생하지 않아 흉터를 방지할 수 있다. 이러한 습윤 드레싱재는 T&L社의 하이드로콜로이드 제품인 레노케어와 같은 제품이 사용되고 있으며, 이 밖에도 메디폼社의 폴리우레탄 폼, T&L社의 번쿨과 같은 하이드로겔 형태의 습윤성 드레싱재를 상처의 크기와 용도에 맞게 사용하고 있다. 화상 치료용 드레싱재의 경우, 앞서 소개한 습윤 드레싱재에 항균, 항생 기능의 약물을 도포 및 적용하여 치료하는 방법을 이용한다<sup>8-10)</sup>.

그러나 현재의 드레싱 시스템에서는 감염 여부와 드레싱재의 교체 시기 확인이 불가능하여 추가 감염을 발생시키거나 잦은 교체로 인해 비교적 높은 비용의 드레싱재로 환자의 부담을 가중시킨다. 그리고 Antibacterial silver, Gentamycin, Povidone iodine 등과 같은 항균 및 항생제의 경우 미감염 상태인 상처에 무분별한 적용으로 환자의 고통이 극심하여 효율적이지 못한 치료가 되고 있다<sup>10,11)</sup>. 그래서 이러한 화상 치료용 습윤 드레싱재 단점을 보완하기 위한 연구를 진행하였으며, 세포 구성 물질인 인지질이 추가 감염의 원인인 박테리아 독소에 파괴 되는 원리를 이용하여, 인지질로 구성된 리포솜을 화상 치료용 습윤성 드레싱재에 적용하기 위한 연구를 진행하였다<sup>12-14)</sup>.

본 연구에서는 복합 인지질을 이용한 리포솜의 형성, Self-quenching으로 인해 리포솜의 파괴를 확인 할 수 있는 5(6)-Carboxyfluorescein 담지, 리포솜 형성 확인 및 파괴 전후 차이, 안정성, 박테리아 센싱 능력에 대해 평가를 하였다<sup>15,16)</sup>.

## 2. 실험

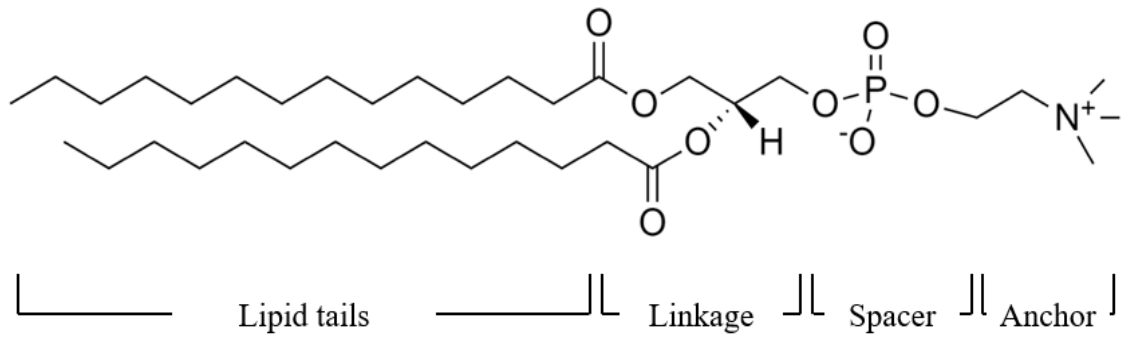
### 2.1 시료 및 시약

본 연구에서는 DMPC(1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, Sigma Aldrich, USA), DPPC(1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, Sigma Aldrich, USA), DSPC(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, Sigma Aldrich, USA), DMPE(1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, Tokyo Chemical Industry, Japan) 인지질을 사용하였고, Cholesterol(Sigma Aldrich, USA)을 이용하여 리포솜 안정성 강화와 형태 안정성을 높였다<sup>16)</sup>.

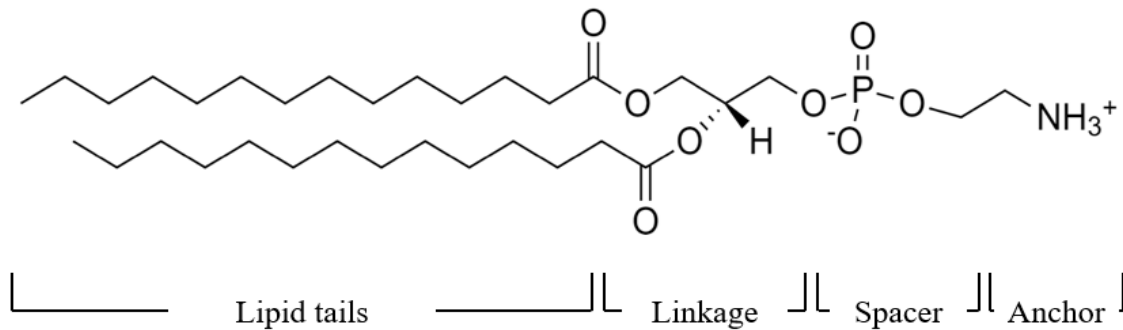
Polydiacetylene계열의 TCDA(10,12-Tricosadiynoic acid, Sigma Aldrich, USA)는 리포솜의 기존 인지질 대비 높은 상전이 온도 부여와 광중합을 통한 안정성 확보를 위해 사용하였다<sup>17)</sup>. 인지질 및 지질 용액을 제조하기 위한 용매로 Chloroform(Duksan, Korea)를 사용하였으며, 5(6)-Carboxyfluorescein(Sigma Aldrich, USA) 형광 염료, Sephadex G-25(GE Health), PBS(Phosphate Buffer Saline)을 이용하여 SEC(Size Exclusion Chromatography)를 진행하였다.

### 2.2 지질 필름 형성

리포솜의 메인프레임을 구성하는 Phosphocholine(PC) 계열 인지질 DMPC, DPPC, DSPC를 사용하고, 리포솜의 유연성을



(a) DMPC(1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)



(b) DMPE(1,2-Dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine)

Figure 2. Structure of synthesis phospholipid.

부여하는 Phosphoetanolamine(PE) 계열 인지질 DMPE, 짧은 길이의 사슬로 각 인지질 간의 이음새 역할인 Cholesterol을 각각 Chloroform을 용매로 하여 25mg/ml 농도의 지질 용액을 준비하였다<sup>18)</sup>. DMPC : DMPE : Cholesterol : TCDA = 3.5 : 3.5 : 1.5 : 1.5, DPPC : DMPE : Cholesterol : TCDA = 3.5 : 3.5 : 1.5 : 1.5, DSPC : DMPE : Cholesterol : TCDA = 3.5 : 3.5 : 1.5 : 1.5, mol 비율로 원형 플라스크에 Voltex mixer (Vision, KMC-1300V, Korea)를 통해 교반을 한 후 Rotary evaporator(EYELA, SYS09008, Japan)를 이용하여 60°C 온도에서 30분간 혼합 용액의 용매 제거를 진행과 동시에 플라스크 내부에 혼합 지질 필름을 형성하였다<sup>16-18)</sup>.

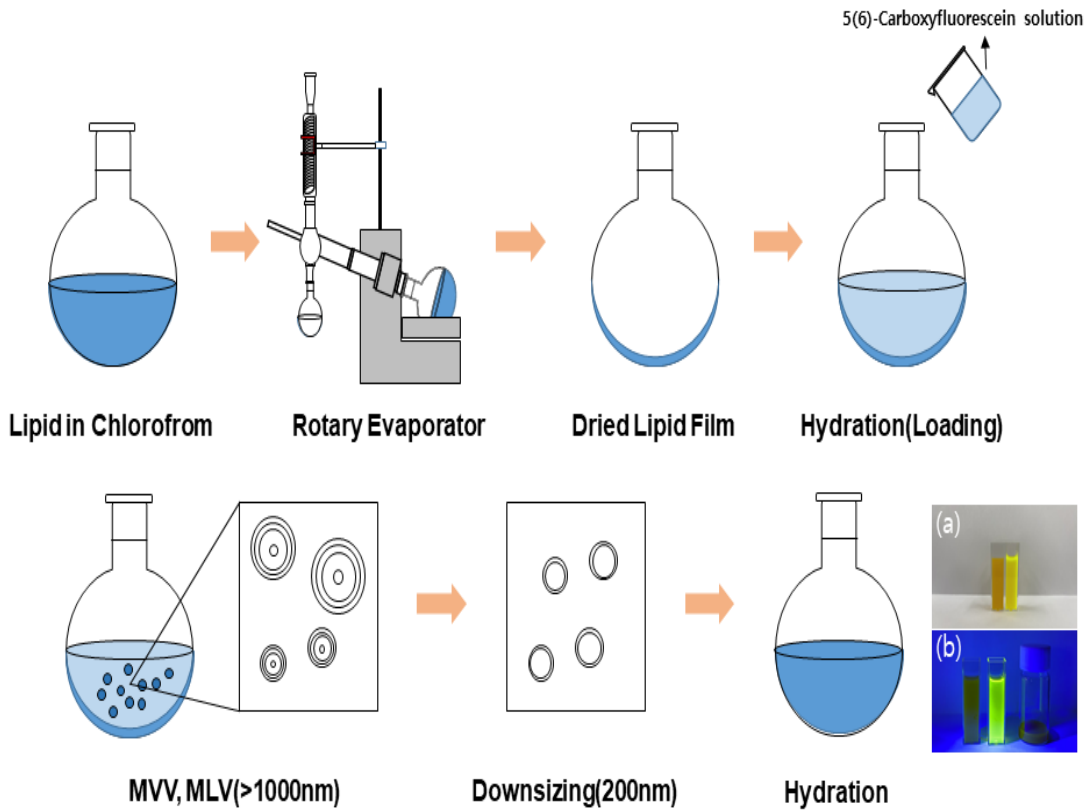
### 2.3 염료 담지

제조 된 지질 필름을 이용하여 5(6)-Carboxyfluorescein 담지를 진행하였다. 5(6)-Carboxyfluorescein은 2N 수산화나트륨 용액과 탈이온수를 혼합하여 pH 8로 용해를 진행하였다. 용

액 담지는 지질 필름 수화 시에 5(6)-Carboxyfluorescein 용액을 수화액으로 사용하여 80°C 온도에 1시간 수화를 진행하였다<sup>19,20)</sup>. 수화 후 Voltex mixer를 이용하여 미수화 지질 필름을 제거함과 동시에 30분간 Sonicator(Branson bransonic 8510, USA)을 이용하여 초음파 처리하여 응집된 지질을 분산시켰다.

### 2.4 리포솜 안정화 및 미담지 염료 제거

5(6)-Carboxyfluorescein이 담지 되어진 리포솜은 MVV (Multivesicular vesicle), MLV(Multi Lamella Vesicles) 형태로 형성 되어 있으며, 이는 1000nm 이상 입도를 형성 할 뿐만 아니라, 형태 유지의 안정성 또한 매우 낮으므로 Liposome Mini-Extruder(Avanti Polar, Mini-Extruder, USA)로 200nm Polycarbonate filter를 이용하여 60°C 조건에서 SUV(Single Lamella Vesicles) 사이즈 축소를 진행하였다<sup>18)</sup>. Phosphate buffer saline(PBS)를 이용하여 Sephadex G-25 Dextran gel을



**Figure 3.** Process of 5(6)-Carboxyfluorescein loading liposome; (a) Comparison before and after liposome disruption, (b) Comparison before and after liposome disruption by 395nm UV light.

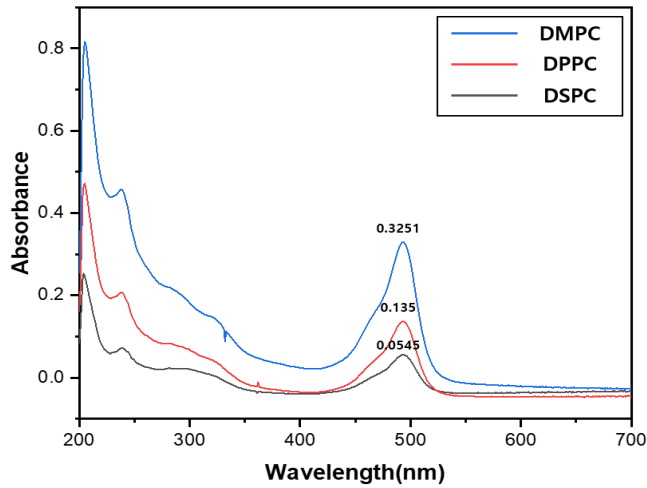
1시간 팽윤 후 Column에 Packing을 하였다. Packing 된 Column을 이용해 Size Exclusion Chromatography(SEC)를 진행하여 미담지 염료를 제거하였다<sup>20,21</sup>. 추출 된 리포솜은 UV-Polymerization을 진행하기 위해 254nm 자외선 노광을 1분간 진행하였다<sup>22</sup>.

### 2.5 5(6)-Carboxyfluorescein 담지 효율 및 열 안정성 평가

리포솜의 전체적인 틀을 구성하는 PC 계열 인지질의 종류에 따른 내부 물질의 담지에 미치는 영향을 확인하기 위하여 DMPC, DPPC, DSPC 리포솜 샘플을 증류수에 희석하여 UV-

**Table 1.** UV-Spectrophotometer liposome sample composition

Sample	DI Water (ml)	Liposome composition (0.01ml)	PC Lipid (mg)	DMPE (mg)	Cholesterol (mg)	TCDA (mg)
1	2.9ml	3.5:3.5:1.5:1.5 (DMPC:DMPE:Cholesterol:TCDA)	35.59	33.39	8.70	7.80
2	2.9ml	3.5:3.5:1.5:1.5 (DPPC:DMPE:Cholesterol:TCDA)	38.54	33.39	8.70	7.80
3	2.9ml	3.5:3.5:1.5:1.5 (DSPC:DMPE:Cholesterol:TCDA)	41.48	33.39	8.70	7.80



**Figure 4.** Differences in the absorbance of liposomes with various phosphatidylcholine phospholipid types.

Spectrophotometer(Thermoscientific, GENESYS180, USA)를 이용하여 5(6)-Carboxyfluorescein의 최대 방출 파장인 495 nm의 파장을 분석하였다.

### 2.6 리포솜 입자 크기 분석 및 형태 확인 분석

복합 인지질로 이루어진 리포솜의 형성을 확인하기 위해 증류수에 희석하여 Dynamic Light Scattering(Otsuka Electronics Co., ELS-2000, Japan)을 사용해 입자 크기를 분석하였다.

### 2.7 리포솜의 형광발색 평가

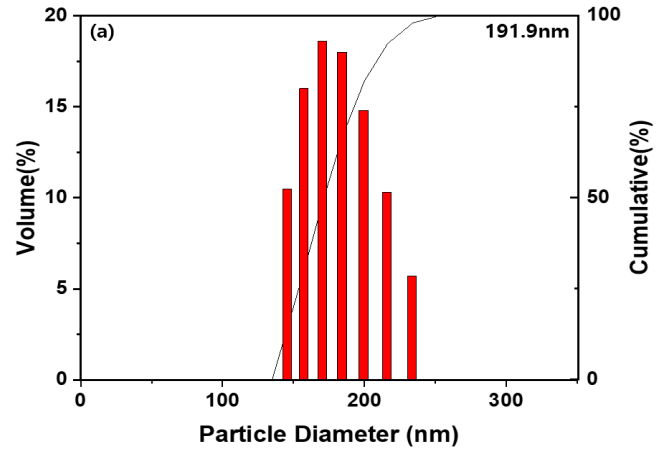
5(6)-Carboxyfluorescein을 담지한 리포솜의 파괴 전후의 형광 방출 성능 및 TCDA UV-Polymerization 유무에 대한 리포솜 안정성을 평가하기 위해 Fluorescence Spectrometer (Scinco FS-2, Korea)를 통해 샘플을 증류수에 희석 후 리포솜 용해를 위한 Triton X-100(Sigma Aldrich, USA) 0.1% 투입 전후 리포솜의 형광 방출 강도를 분석하였다.

### 2.8 균주 반응 테스트

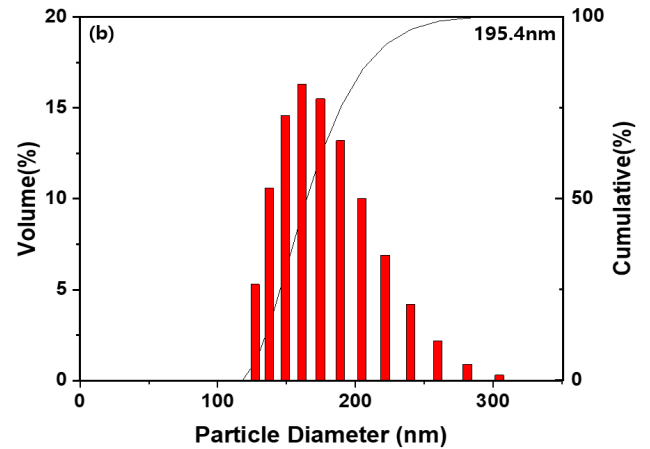
병원성 미생물 균주인 *Staphylococcus aureus*에 대한 리포솜의 반응 여부와 시료의 적정 비율을 결정하기 위하여 Tryptone Soya Broth(TSB) 배지를 이용하여 균 배양액과 리포솜을 여러 비율로 혼합하여 반응온도, 반응시간에 따라 형광 발색 유무를 확인하였으며, 형광을 검출할 수 있는 395nm UV 라이트를 이용하여 샘플 간 형광 발색 정도를 육안으로 비교하여 판별하였다.

### 2.9 동물 세포 반응 테스트

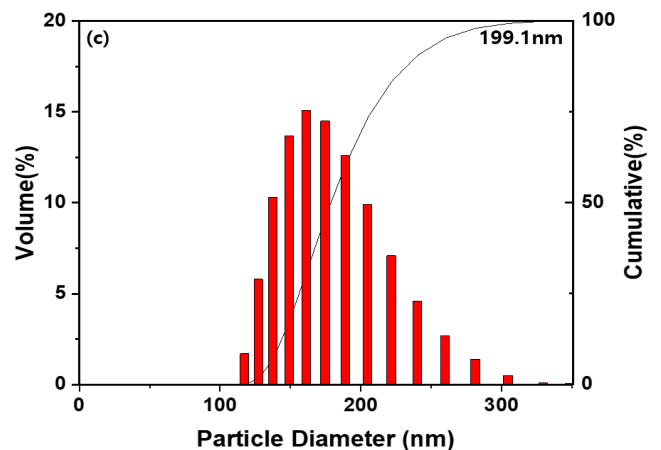
복합 인지질 리포솜이 균주에 반응한다는 것과 동물 세포에 의해 반응하지 않는 것을 입증하기 위해 균주가 존재하지 않는



(a) DMPC liposome

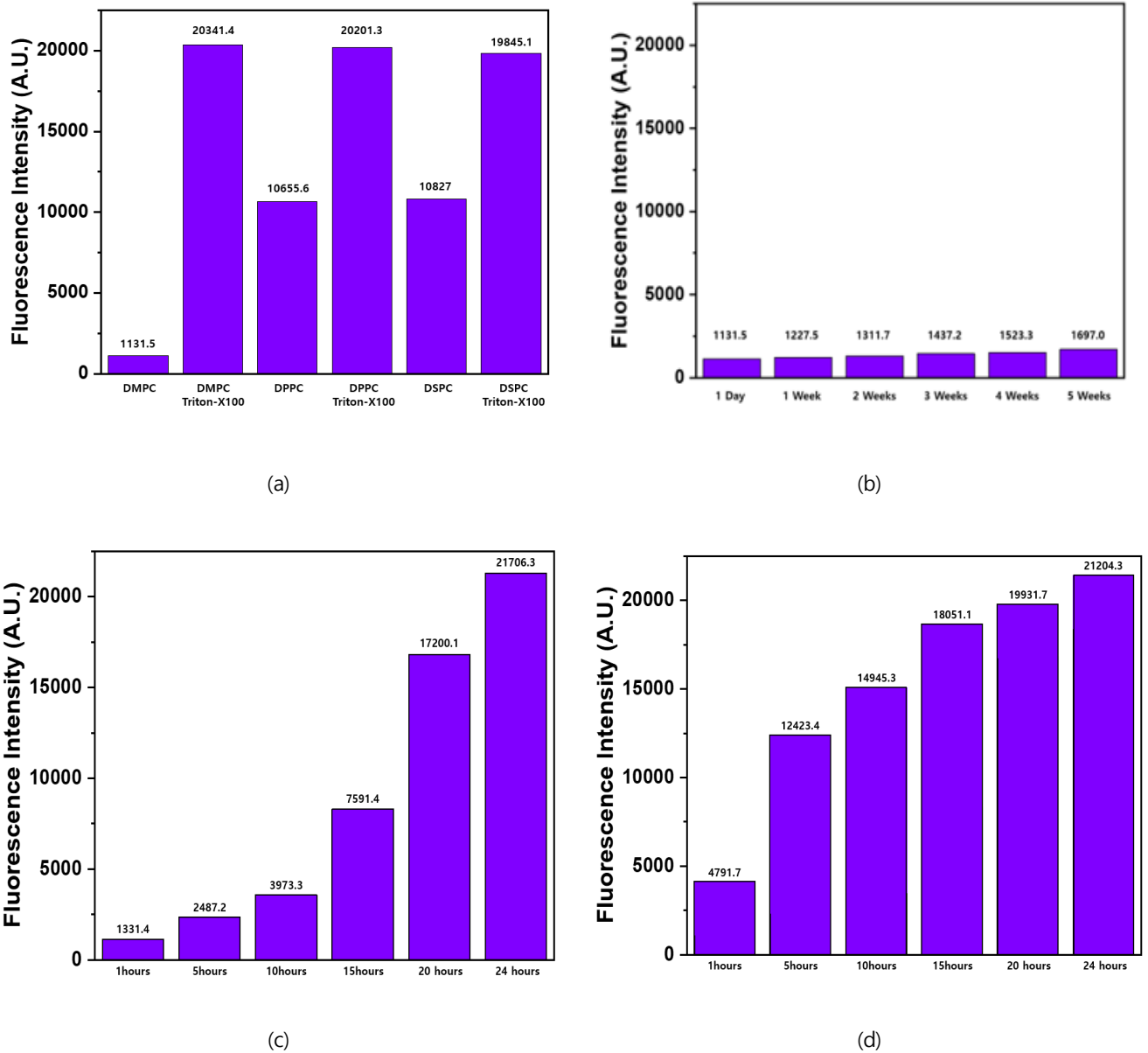


(b) DPPC liposome



(c) DSPC liposome

**Figure 5.** Effects of phosphatidylcholine phospholipid types on liposome particle size; (a) DMPC liposome, (b) DPPC liposome, and (c) DSPC liposome.



**Figure 6.** Fluorescence intensity measurement; (a) Comparison before and after liposome disruption, (b) DMPC liposome time stability comparison, (c) DMPC liposome thermal stability test after UV-polymerization DMPC liposome thermal stability test before UV-polymerization, and (d) DMPC liposome thermal stability test before UV-polymerization.

동물 세포 반응 테스트를 진행하였다.

동물 세포로는 인간 각질 형성 세포주인 HaCaT(Human Keratinocytes)을 이용하였고, 배양 배지로는 DMEM(Dulbecco Modified Eagle Medium), 5% bovine calf serum, 1% PS(Penicillin/Streptomycin)을 사용하여 배양 배지 내 동물 세포와 리포솜을 여러 비율로 혼합하여 반응온도 25°C, 인체 온도와 유사한 37°C 조건에 이산화탄소를 5% 사용하여 395nm UV 라이트로 샘플 간 형광 발색 정도를 육안으로 비교하여 판별하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 인지질 종류에 따른 담지율 변화 및 리포솜 형성 확인

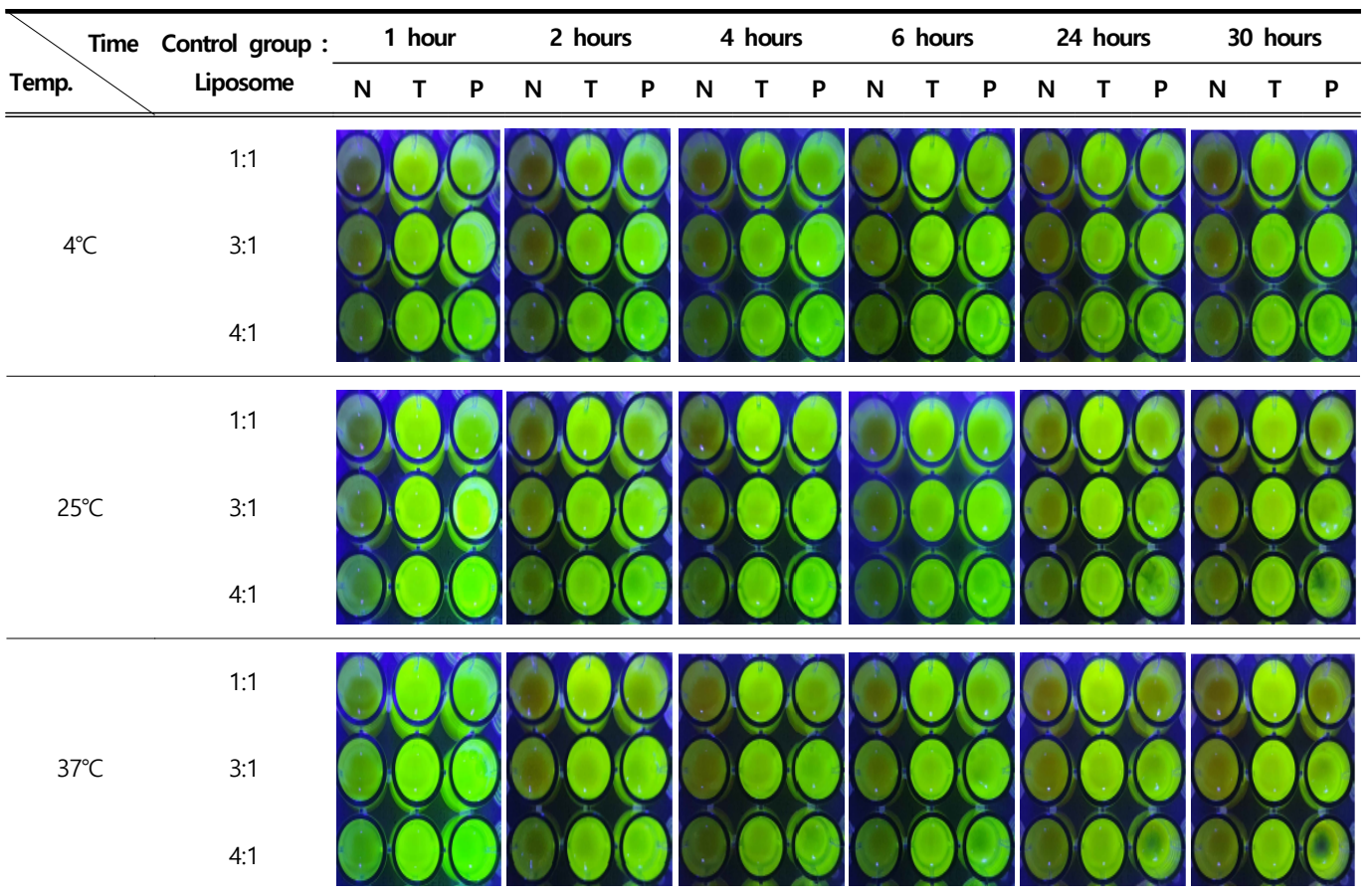
Table 1에 나타나 있는 인지질 종류의 변화에 따라 형성된 리포솜의 내부 약물 담지율을 Figure 4를 통해 알 수 있다.

리포솜의 프레임을 구성하는 인지질 중 PC 계열 인지질은 DMPC, DPPC, DSPC 등과 같이 다양한 종류가 존재한다. 이



**Table 2.** Bacterial sensing test mixing ratio; (N) Culture medium:Liposome, (T) Bacterial culture fluid:Liposome, (P) Methanol:Liposome

	N	T	P
Mixing ratio	1:1	1:1	1:1
	3:1	3:1	3:1
	4:1	4:1	4:1



**Figure 7.** Bacterial sensing test by temperature and time with bacterial sensing.

때 담지 성능 향상을 위해 DMPC, DPPC, DSPC를 적용하여 리포솜 제조를 진행하였다. 첨가된 세 가지 PC계열 인지질의 함량은 당량 비에 따라 차이가 발생하였다. 그 외 리포솜의 안정성을 부여해주는 다른 인지질의 함량은 DMPE : Cholesterol : TCDA = 3.5 : 1.5 : 1.5의 비율로 고정하여 적용하였다. 제조된 샘플의 흡광도를 측정된 결과 DMPC를 사용 하였을 때, 5(6)-Carboxyfluorescein의 495nm 방출 파장의 흡광도는 0.3251 cm<sup>-1</sup>, DPPC를 사용하였을 때 0.135cm<sup>-1</sup>이며, DSPC는 0.0545

cm<sup>-1</sup>로 DMPC를 사용한 리포솜이 담지 효율이 가장 높은 것으로 확인되었다.

### 3.2 리포솜 사이즈 확인

DLS를 이용하여 리포솜의 사이즈를 Figure 5를 통해 알 수 있다. DMPC 리포솜의 평균 입도 191.9nm, DPPC 리포솜의 평균 입도 195.4nm, DSPC 리포솜의 평균 입도 199.1nm 순

으로 Liposome Mini-Extruder를 통해 유사한 평균 입도 사이즈를 유지하는 것을 확인되었다.

### 3.3 리포솜 파괴 전후 센싱 능력 확인

Table 1에 나타나 있는 인지질 종류의 변화에 따라 형성된 리포솜의 내부 담지 물질인 5(6)-Carboxyfluorescein의 방출을 형광 강도 측정 분석을 Figure 6에 확인하였다.

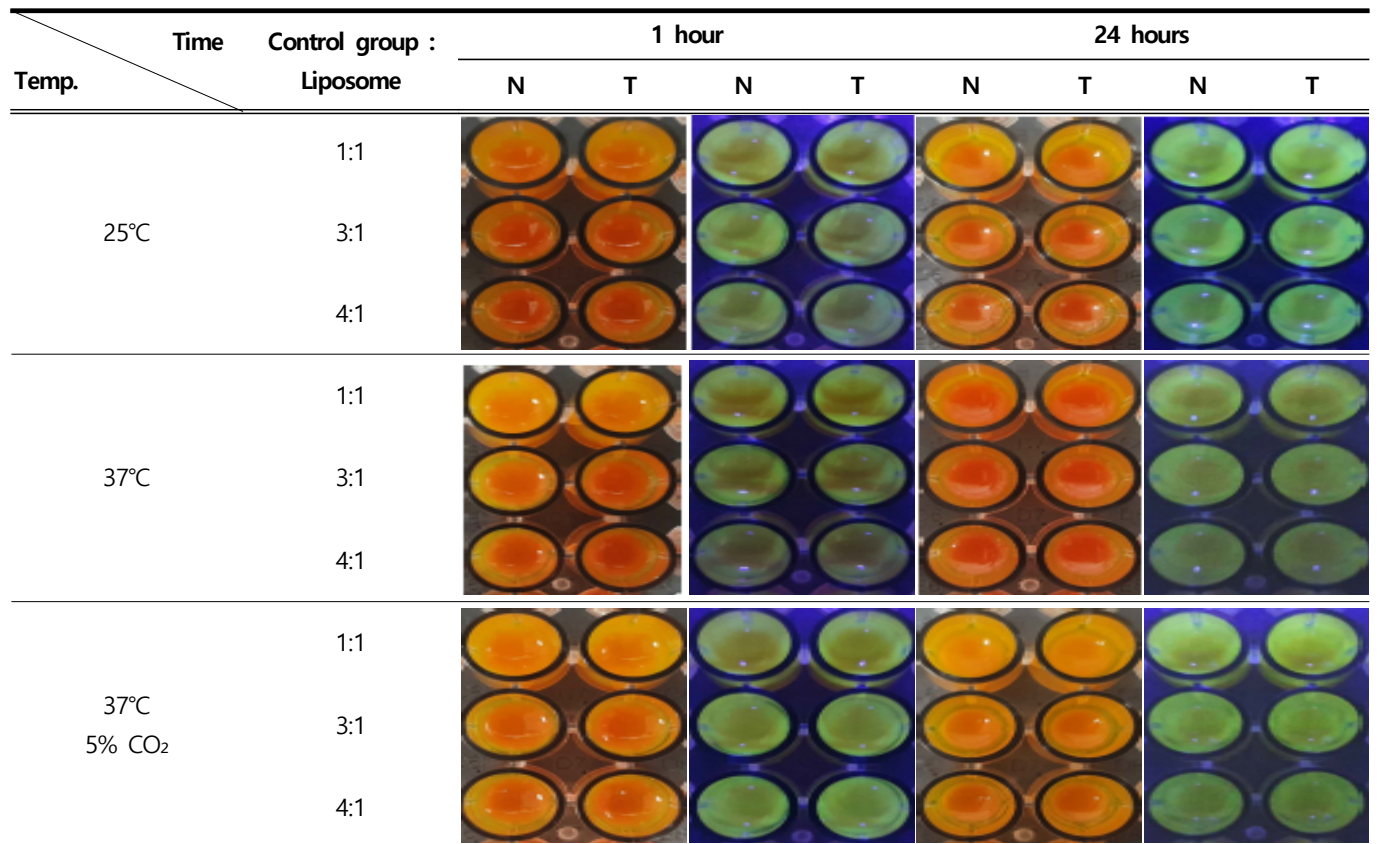
Figure 6의 (a)와 같이 DMPC로 구성 된 리포솜의 경우 파괴 전후에 따라 1,790%의 형광 강도가 증가하였고, DPPC 리포솜 189%, DSPC 리포솜 183%의 형광 강도 증가를 확인 할 수 있었

다. DPPC 리포솜과 DSPC 리포솜의 경우 파괴 전에도 형광의 방출이 상대적으로 DMPC 리포솜보다 약 10배의 차이를 보인다. 가장 우수한 약물 담지 성능을 가진 DMPC 리포솜의 10°C 온도를 유지하여 보관한 결과 5주 까지 약물의 봉입율이 변동이 없는 것이 Figure 6의 (b)를 통해 확인할 수 있었다.

리포솜을 구성하는 요소 중 하나인 TCDA의 UV-Polymerization의 유무에 따라 60°C 온도에서 형광 방출 세기를 분석 하였을 때, UV-Polymerization 샘플은 10시간 후로 형광 방출 세기가 급진적으로 증가하였음과 UV-Polymerization의 발생 전의 샘플은 5시간 전후로 형광 방출 세기가 급속도로 증가 하는 것을 Figure 6의 (c)와 (d)로 확인할 수 있었다. 이를 통

**Table 3.** Cell reaction test mixing ratio; (N) Culture medium:Liposome, (T) Cell suspension:Liposome

		N	T
Mixing ratio		1:1	1:1
		3:1	3:1
		4:1	4:1



**Figure 8.** Cell reaction test with cell reaction test mixing ratio.



해 DMPC 리포솜의 높은 담지율, 10°C 보관 안정성, UV-Polymerization 전후 온도에 대한 안정성 증가를 확인할 수 있다.

### 3.4 균주 및 동물세포 반응 확인

Table 2와 Figure 7를 통해 5(6)-Carboxyfluorescein을 담지한 복합인지질 리포솜이 같은 배양 배지에서 미생물 배양 배지인 음성대조군에서는 형광 반응이 나타나지 않은 것에 비해 *Staphylococcus aureus* 균 배양액에서는 리포솜의 형광 반응이 혼합 즉시 나타나는 것을 확인할 수 있다. 양성대조군인 메탄올의 경우 균 배양 액과 같이 형광 반응이 일어나는 것으로 확인되었다.

동물 세포 반응 실험의 경우 Table 3의 혼합비를 이용한 실험 결과인 Figure 8을 통해 확인할 수 있다. 동물 세포 배양 배지인 음성대조군과 실험군에서도 형광반응이 관찰되지 않아 세포주 중 하나인 HaCaT 세포에 대해 리포솜이 반응하지 않는 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 리포솜이 균주에만 특이적으로 반응하는 것을 입증하는 결과로 생각된다.

## 4. 결 론

화상치료용 습윤 드레싱재에 사용하기 위한 리포솜을 PC, DMPE, Cholesterol, TCDA를 이용하여 합성을 진행하였다. PC계열의 DMPC, DPPC, DSPC 종류별 변화를 주어 5(6)-Carboxyfluorescein의 담지율을 흡광도 및 형광강도 측정을 통해 DMPC 리포솜의 가장 높은 담지율을 확인하였다.

DMPC 리포솜의 입자 크기는 200nm로 작은 입자 크기를 가졌다. 가장 높은 성능을 가진 DMPC 리포솜의 냉장보관 안정성, UV-Polymerization 유무에 따른 리포솜 열적 안정성을 형광 강도 분석을 통해 확인하였으며, 앞선 과정을 거친 결과물을 제작하여 박테리아 균주 및 동물 세포 반응을 확인해본 결과 *Staphylococcus aureus*의 박테리아에 반응하며, 같은 조건의 배양 배지일지라도 균이 없을 시에 형광 발현은 일어나지 않는 것으로 확인하였다. 동물 세포의 경우 균이 존재하지 않을 시에 리포솜의 반응은 농도와 상관없이 박테리아에 감염 될 경우만 반응되는 것으로 확인하였다. 이를 통해 현재 화상 치료 드레싱 시스템의 단점 중 교체 시기 여부 확인이 가능한 드레싱재의 응용을 할 수 있다.

## References

1. V. H. Filaj and M. K. Belba, Epidemiological Trends of Severe Burns, 2009-2019: A Study in the Service of Burns in Albania, *Burns*, **47**(4), 930(2021).
2. W. Brodzka, H. L. Thornhill, and S. B. Howard, Causes and Risk Factors, *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, **66**(11), 746(1985).
3. A. M. Rose, Z. Hassan, K. Davenport, N. Evans, and S. Falder, Adherence to National Burn Care Review Referral Criteria in a Paediatric Emergency Department, *Burns*, **36**(8), 1165(2010).
4. T. J. Schaefer and K. D. Szymanski, "Burn Evaluation and Management", Treasure Island, Florida, pp.103-105, 2017.
5. G. A. Kannon and A. B. Garrett, Moist Wound Healing with Occlusive Dressings: A Clinical Review, *Dermatologic Surgery*, **21**(7), 583(1995).
6. D. Church, S. Elsayed, O. Reid, B. Winston, and R. Lindsay, Burn Wound Infections, *Clinical Microbiology Reviews*, **19**(2), 403(2006).
7. Z. U. Abidin, A. Ilyas, F. A. Khalid, M. Y. Mehrose, I. Shahzad, A. M. Mujahid, and M. N. Tarar, Application of Cling Film over Burn Wounds(Occlusive Wound Dressing): Our Experience, *Journal of Ayub Medical College, JAMC*, **33**(2), 236(2021).
8. G. C. Fowler and P. Fenninger, "Procedures for Primary Care", Elsevier Health Sciences, Philadelphia, pp.434-437, 2019.
9. M. P. Rowan, Burn Wound Healing and Treatment: Review and Advancements, *Critical Care*, **19**(1), 1(2015).
10. A. J. Toppo, N. R. Pagani, M. A. Moverman, R. N. Puzitiello, M. E. Menendez, and J. J. Kavolus, The Cost-effectiveness of Silver-impregnated Occlusive Dressings for Infection Prevention after Total Joint Arthroplasty, *The Journal of Arthroplasty*, **36**(5), 1753(2021).
11. J. L. Clement and P. S. Jarrett, Antibacterial Silver, *Metal-based Drugs*, **1**(5-6), 467(1994).
12. J. Zhou, A. L. Loftus, G. Mulley, and A. T. A. Jenkins, A Thin Film Detection/response System for Pathogenic Bacteria, *Journal of the American Chemical Society*, **132**(18), 6566(2010).
13. M. Chountoules, N. Naziris, N. Pippa, and C. Demetzos, The Significance of Drug-to-lipid Ratio to the Development of Optimized Liposomal Formulation, *Journal of Liposome Research*, **28**(3), 249(2018).
14. S. Shah, V. Dhawan, R. Holm, M. S. Nagarsenker, and Y. Perrie, Liposomes: Advancements and Innovation in the Manufacturing Process, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **154**, 102(2020).
15. M. R. Mozafari, "Nanoliposomes: Preparation and Analysis, In Liposomes", Humana press, Glendale, pp.29-50, 2010.
16. D. D. Lasic, Novel Applications of Liposomes, *Trends in Biotechnology*, **16**(7), 307(1998).
17. A. U. Rehman, Z. Omran, H. Anton, Y. Mély, S. Akram, T. F. Vandamme, and N. Anton, Development of Doxorubicin Hydrochloride Loaded pH-Sensitive Liposomes: Investigation on the Impact of Chemical Nature of Lipids and Liposome Composition on pH-Sensitivity, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **133**, 331(2018).

18. J. Li, X. Wang, T. Zhang, C. Wang, Z. Huang, X. Luo, and Y. Deng, A Review on Phospholipids and Their Main Applications in Drug Delivery Systems, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **10**(2), 81(2015).
19. R. F. Chen and J. R. Knutson, Mechanism of Fluorescence Concentration Quenching of Carboxyfluorescein in Liposomes: Energy Transfer to Nonfluorescent Dimers, *Analytical Biochemistry*, **172**(1), 61(1988).
20. S. Dutta, B. G. Watson, S. Mattoo, and J. C. Rochet, Calcein Release Assay to Measure Membrane Permeabilization by Recombinant Alpha-Synuclein, *Bio-protocol*, **10**(14), e3690 (2020).
21. D. Lichtenberg, E. Freire, C. F. Schmidt, Y. Barenholz, P. L. Felgner, and T. E. Thompson, Effect of Surface Curvature on Stability, Thermodynamic Behavior, and Osmotic Activity of Dipalmitoylphosphatidylcholine Single Lamellar Vesicles, *Biochemistry*, **20**(12), 3462(1981).
22. M. Lin and X. R. Qi, "Liposome-based Drug Delivery Systems", Springer E-Book, Berlin, pp.111-120, 2021.

## Authors

- 한민호** 영남대학교 파이버시스템공학과 석사과정 학생  
**전재우** DYETEC연구원 책임연구원  
**이준영** DYETEC연구원 선임연구원  
**신은숙** DYETEC연구원 전임연구원  
**김우진** DYETEC연구원 전임연구원  
**김삼수** 영남대학교 파이버시스템공학과 교수