

# 가용화제를 활용한 세라마이드 고함량의 수화 액정형 베시클 개발

박민선 · 진병석<sup>†</sup>

동덕여자대학교 화학·화장품학부  
(2021년 8월 4일 접수, 2021년 9월 9일 수정, 2021년 9월 17일 채택)

## Preparation of Hydrated Liquid Crystalline Vesicles Containing High Content of Ceramide using a Solubilizer

Min Seon Park and Byung Suk Jin<sup>†</sup>

Division of Chemistry and Cosmetics, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea  
(Received August 4, 2021; Revised September 9, 2021; Accepted September 17, 2021)

### 초 록

세라마이드와 인지질, 콜레스테롤 등과의 상호적 자가회합이 가능한 최적의 조성을 구성하여 세라마이드 고함량의 수화 액정형 베시클을 제조하였다. 혼합조성을 달리하여 다양한 베시클을 제조한 결과, 에지 액티베이터인 sodium deoxycholate (SDOC)와 가용화제인 PEG-60 hydrogenated castor oil (HCO 60)을 혼합하여 베시클을 만들었을 때, 가장 작은 나노 사이즈의 입자가 만들어지고, 베시클 분산액은 약산성이면서 가장 안정한 상태를 유지하였다. 또한 편광현미경과 열분석을 통해 SDOC와 HCO 60의 첨가가 세라마이드 등 지질 성분의 결정성 억제에 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 베시클 분산액은 8주 동안의 고온의 장기 보관에서도 외관 및 점도의 변화없이 안정성이 그대로 유지되었다.

### Abstract

Hydrated liquid crystalline vesicles containing a high content of ceramide were prepared by constituting an optimal composition in which ceramides can be mutually self-associated with phospholipid and cholesterol. From the result of manufacturing various vesicles with different component composition, when the edge activator sodium deoxycholate (SDOC) and the solubilizer PEG-60 hydrogenated castor oil (HCO 60) were mixed to form vesicles, the smallest nano-sized particles were produced and the vesicle dispersion solution was weakly acidic and maintained the most stable state. In addition, it was confirmed through polarized light microscopy and thermal analysis that the addition of SDOC and HCO 60 had an effect on the inhibition of crystallinity of lipid components such as ceramide. The stability of the vesicle dispersion solution was maintained without change in appearance and viscosity even after long-term storage at high temperature for eight weeks.

**Keywords:** Ceramide, Phospholipid, Edge activator, Solubilizer, Vesicle

## 1. 서 론

피부 각질층의 각질세포 사이에는 라멜라 구조의 지질층이 있으며, 이 지질층은 주로 세라마이드, 지방산, 콜레스테롤, 기타 증성지질 등으로 구성되어 있다. 세라마이드는 지질층에서 30~40%의 중량비율을 차지하는데, 지질층의 라멜라 구조를 견고하게 만들어 수분증발을 막고 외부 물질의 피부 침투를 막는 등 피부 장벽기능에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[1,2]. 피부 내에서 세라마이드 양이 감소하게 되면 피부의 장벽기능이 약화되면서 외부 자극에 노출되어 아토피, 비늘증, 건선, 피부건조 등과 같은 여러 피부 질환이 나타나는

것으로 보고되고 있다[3-6]. 세라마이드를 피부 속에 충분히 공급해주면 피부 장벽이 재생되면서 이러한 질환의 증상들이 개선될 수 있지만, 세라마이드는 난용성 물질이기 때문에 세라마이드를 함유한 제형을 만드는 데 어려움이 많다.

스핑고지질(sphingolipid)의 일종인 세라마이드는 비극성 지방분자 간 작용하는 반데르발스 인력과 아마이드(amide group), 하이드록시기(hydroxyl group)의 극성분자 간 수소결합이 작용한다[7,8]. 이러한 강한 인력의 작용으로 인하여 세라마이드는 결정성이 높고, 제형에 세라마이드가 함유되면 세라마이드 결정화로 인하여 석출, 겔화(gelling) 등이 발생하면서 제형의 안정성이 떨어진다. 따라서 결정화로 인한 제형의 변화를 막기 위해서 세라마이드는 일반적으로 제품에 1% 이하의 소량으로 처방되어 사용되어 왔다.

제형에 세라마이드 함량을 높이기 위한 방법으로, 세라마이드를 고농도로 함유한 고형의 라멜라 과립이나 캡슐 등을 만든 후, 이를 최종 제형에 분산시키는 방법이 적용되고 있다[9-11]. 이러한 방법들은 고

<sup>†</sup> Corresponding Author: Dongduk Women's University  
Division of Chemistry and Cosmetics, Seoul 02748, Korea  
Tel: +82-2-940-4513 e-mail: bsjin@dongduk.ac.kr

형의 과립이나 마이크로 크기의 캡슐이 피부 각질층 내부로 침투가 어렵기 때문에 세라마이드의 충분한 피부 흡수를 기대하기 어렵다. 세라마이드의 피부흡수를 위하여, 세라마이드를 리포솜, 나노 에멀전, 마이크로 에멀전, 나노 입자 등 여러 형태로 제조, 분산하는 방법 등 [12-18]이 시도되고 있지만, 이들 방법으로 제품화 하는 데 있어 세라마이드 함량이 충분하지 않거나 제조 과정이 단순하지 않는 등의 여러 한계를 지니고 있다.

본 연구진은 인지질과 세라마이드의 상호적 자가회합(mutual self-association) 특성을 활용하여 세라마이드를 고함량으로 함유하는 수화 액정형 베시클을 제조하였는데, 에지 액티베이터(edge activator)로 sodium deoxycholate를 도입하여 구성을 최적화한 경우, 최대 3% 대의 세라마이드를 함유한 베시클 분산액 제조가 가능하였다[19]. 하지만 베시클 분산액 자체를 제품으로 제형화하는 과정에서 다음과 같은 문제점들이 발생하였다. 피부는 약산성일 때 가장 건강한 상태를 유지할 수 있으며, 피부 장벽의 재생도 약산성에서만 가능하고 중성이나 알칼리성에서는 피부장벽의 재생이 지연되는 것으로 보고되고 있다[20]. 하지만 앞서 개발된 베시클 분산액은 pH가 7 이상의 알칼리성이고, pH 조절을 위해 베시클 분산액에 산성의 물질을 첨가하게 되면 베시클이 파괴되고 침전물이 형성된다. 또 다른 문제는 베시클 분산액의 장기간 보관 안정성에 관한 것으로, 특히 고온에서 장기간 보관할 경우 베시클의 팽윤에 의해 분산액의 점도가 그대로 유지되지 못하고 점도가 증가하는 현상이 나타난다. 따라서 본 연구에서는 이러한 문제점들을 해결하기 위하여, 가용화제를 포함하는 새로운 성분 구성으로 베시클 제조를 시도하였다. 가용화제 종류, 성분 구성에 따라 베시클 형성 및 세라마이드 안정성에 미치는 영향을 살펴보면서 베시클 구성 조합을 최적화하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 사용 재료

본 실험에서 사용된 인지질은 콩에서 추출한 지질을 수소첨가 반응을 시켜 불포화 성분을 제거한 레시틴으로 phosphatidyl choline (PC) 성분이 95% 이상인 Emulmetik 950 (Lucas Meyer사, 캐나다)을 사용하였고 편이상 인지질의 명칭을 HPC (hydrogenated phosphatidyl choline)로 표기하였다. 세라마이드는 ceramide NP 성분인 두산 솔루스(한국)의 DS-Ceramide Y30 제품(Cera로 표기)을 사용하였다. Sodium deoxycholate (SDOC로 표기), cholesterol (Chol로 표기) POE20 sorbitan monooleate (상품명 Tween 80)은 모두 Sigma-Aldrich사의 제품을 사용하였다. 이 밖에 PEG-60 hydrogenated castor oil (상품명 HCO 60, Nikkol사, 일본), Polyglyceryl-4 caprate (상품명 Soldoc PG410, IQL사, 스페인), Octyldodeceth-16 (상품명 Emalex OD-16, Nihon emulsion사, 일본), Decaglycerine monostearate (상품명 Almax9060, 일신웰스, 한국) 등의 가용화제를 사용하였다. 가용화제는 편이상 본 논문에서 화학명 대신 상품명으로 표기하였다. 에탄올은 대정화금(한국)의 순도 99.5% 제품을 사용하였다.

### 2.2. 사용 기기

수화 액정형 베시클 제조 시 사용하는 초음파 분쇄기는 프로브 타입의 Sonic & Materials Inc.의 VC505 모델을 사용하였고, 베시클 입자 크기와 표면 제타 전위는 레이저 광산란 측정 장치인 Otsuka사의 Zeta-Potential & Particle Size Analyzer ELSZ-2000 모델을 사용하여 측정하였다. 액정상 구조관찰을 위해 편광 현미경은 Nikon사의

ECLIPSE E400 POL 모델을 사용하였고, 수화 액정의 열적 특성은 TA의 시차주사 열량계(DSC) Q-10 모델을 사용하여 질소가스 주입속도 50 mL/min, 승온 속도 10 °C/min로 설정하고 측정하였다. 장기보관에 따른 분산액의 점도 변화는 우벨로드(Ubbelohde) 점도계를 사용하여 측정하였다. 그래프에서 나타난 특성 값은 측정된 결과들의 평균값 ± S.D.이고 통계분석은 5% 유의수준에서 student's *t*-test를 실시하였다.

### 2.3. 수화 액정형 베시클 제조

수화 액정형 베시클 제조를 위한 각각의 조성은 Table 1과 같다. 세라마이드 2% 함량의 베시클 분산액 제형을 만들기 위하여, HPC와 콜레스테롤의 혼합지질 대비 세라마이드 비율을 반으로 고정하였다. 따라서 전체 20 g의 분산액을 만든다고 할 때, HPC와 콜레스테롤은 각각 0.7, 0.1 g씩 혼합하고 세라마이드를 이들 혼합량의 반인 0.4 g을 첨가하였다. HPC, 콜레스테롤, 세라마이드의 혼합성분이 베시클 막을 구성하지만, 이들 외에도 베시클이 나노 사이즈로 안정하게 잘 형성될 수 있도록 SDOC와 가용화제가 첨가되는데, 이들이 첨가되는 함량의 합은 0.1로 고정하였다.

수화 액정형 베시클은 수화과정을 통해 lyotropic 라멜라 액정 배열을 유도한 후, 액정을 rotational isomerization 상태에서 물속에 분산시키는 비교적 간단한 2단계 공정으로 만들어지는데[21], 제조 과정은 다음과 같다. HPC, 콜레스테롤, 세라마이드, SDOC, 가용화제를 정량하여 둥근 바닥 플라스크에 넣고 에탄올을 첨가한다. 65 °C의 항온조에서 상기 혼합물을 에탄올에 완전히 용해시켜 투명한 졸(sol) 상태의 용액을 만든다. 투명한 용액에 증류수 1 g을 넣고 교반을 시키면, 투명하였던 졸 용액은 유백색의 수화 액정상(liquid crystalline phase)이 형성되면서 겔(gel)과 같은 점성을 갖게 된다. 이러한 액정 상에 정량 용액 펌프를 이용하여 나머지 증류수를 서서히 첨가하면서 교반을 통해 전단력을 가하면, 수화 액정상이 구형의 베시클 입자 형태로 물속에 분산되면서 콜로이드 용액이 만들어진다. 베시클 입자를 더 작고 균일한 사이즈로 만들기 위하여 베시클 분산 용액을 바이알 병에 옮겨 담은 후, 2분 동안 초음파를 가하고 이를 상온에서 서서히 식혀 수화 액정형 베시클을 최종적으로 완성하였다.

## 3. 결과 및 고찰

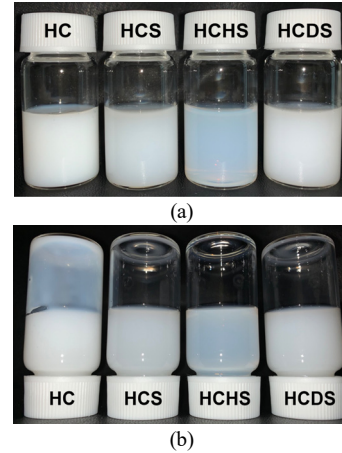
인지질(HPC)은 에탄올에 용해되지만, 여기에 일정 비율 이상의 물을 가하게 되면 비용매성 물의 첨가에 의해 에탄올의 용해력(solvation)이 감소하면서 HPC 분자가 배열하게 되고 유방성 (lyotropic) 액정이 형성된다. 이 액정은 지질 이중층(lipid bilayer)과 물 층이 교대로 배열된 라멜라 구조로 겔(gel)과 같은 점성을 갖는다. 이 액정에 서서히 물을 가해주면서 전단력을 가하면 미세 입자가 물에 분산되면서 콜로이드 형태의 베시클 분산액이 만들어지는데, 여기서 분산된 미세 입자가 수화 액정형 베시클이다. HPC에 세라마이드를 첨가하여 혼합을 하게 되면, 특정 혼합 비율 내에서는 두 물질 상호 간의 자가 회합 특성이 유지되면서 수화 액정형 베시클이 형성될 수 있지만, 세라마이드 혼합비율이 높아질수록 세라마이드의 결정성이 강하게 나타나 베시클 형성이 점점 더 어려워진다. 또한 베시클이 일단 만들어지더라도 시간이 지나면서 베시클이 팽윤(swelling)되면서 분산액 점도가 상승하는 등 제형의 안정성 문제도 발생한다. 따라서 세라마이드의 혼합 비율을 최대한 높여 베시클에 세라마이드가 고함량으로 함유되더라도 베시클이 오래동안 안정된 상태를 유지하는 것이 중요하다.

**Table 1. Formulation of Hydrated Liquid Crystalline Vesicles Containing Ceramide**

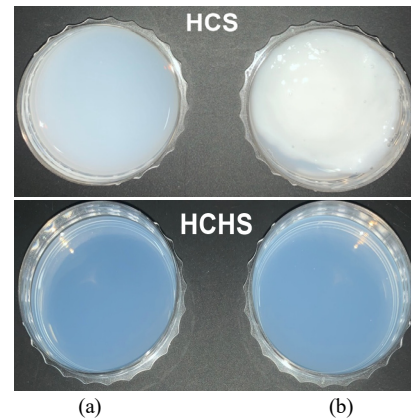
Sample	HC	HCH	HCS	HCHS	HHS
HPC	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Chol	0.1	0.1	0.1	0.1	-
Cera	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Ethanol	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
HCO 60		0.1		0.09	0.09
SDOC			0.1	0.01	0.01
D.W.			UP TO 20		
TOTAL			20		

Sample	HCHS1	HCHS2	HCTS	HCSS	HCDS	HCAS
HPC	0.6	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7
Chol	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Cera	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Ethanol	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
HCO 60	0.09	0.09				
SDOC	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
TW 80			0.09			
Soldoc PG410				0.09		
Emalex OD-16					0.09	
Almax 9060						0.09
D.W.			UP TO 20			
TOTAL			20			



**Figure 1. Comparison of appearance of HPC/ceramide vesicle dispersion solutions with different component composition (a) immediately after manufacturing (b) after 8 weeks (upside down).**



**Figure 2. Comparison of changes in appearance of vesicle dispersion solutions HCS and HCHS (a) before addition (b) after addition of lactic acid.**

Figure 1은 구성 성분의 조성을 달리하여 만든 베시클의 분산액 외관 모습을 비교한 것이다.

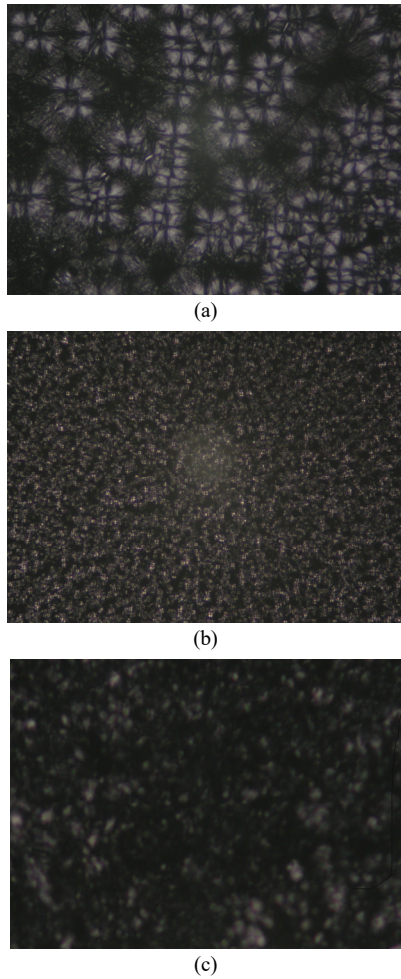
HC는 가용화제와 SDOC 첨가 없이 베시클을 제조한 것으로 분산액이 우윳빛과 같은 불투명한 유백색으로 나타났다. 여기에 SDOC만을 첨가하여 만든 HCS, SDOC와 가용화제 HCO 60을 혼합 첨가한 HCHS로 갈수록, 분산액이 점점 더 투명해지고 푸르스름한 빛(bluish)의 외관으로 변화했다. 가용화제를 HCO 60 대신 Emalex OD-16으로 사용한 HCDS는 불투명한 외관으로 나타났다.

이들 베시클 분산액을 제조한 지 8주가 지난 후에 바이알 병을 거꾸로 놓고 외관을 비교하였다(b). HC에서는 병 표면에 분산액이 걸쭉하게 묻어 있는 것을 볼 수 있는데, HC는 분산액 점도가 상승하는 등 베시클이 매우 안정하지 못함을 쉽게 판별할 수가 있다. HC를 제외한 나머지 세 분산액은 병의 벽면에 묻은 분산액이 거의 없이 깨끗하게 보이지만, HCS와 HCDS는 사진 위쪽 병 바닥면에 분산액이 조금 묻어 있는 모습이 보였고, HCHS는 오랜 시간이 지나도 제조 직후와 거의 같은 상태를 유지하고 있었다.

베시클 분산액을 화장품 제형으로 만들고자 할 때, 베시클 분산액에 항염제, 보존제 등 여러 성분들이 필요에 따라 더 첨가될 수 있다. 따라서 어떤 다른 성분이 첨가되어도 베시클이 파괴되지 않는 안정성이 필요하다. Figure 2는 HCS와 HCHS 각각에 젖산(lactic acid) 소량을 첨가하였을 때 외관 변화를 비교한 것이다. HCS에 젖산 첨가 전(a)과 후(b)을 비교하면, 젖산 첨가로 베시클이 완전 파괴되고 하얀 침전물이 겔과 같이 형성됨을 볼 수 있다. 이에 반해 HCHS는 젖산 첨가 전 후에 외관 변화가 거의 없이 베시클이 안정한 상태를 유지함을 알

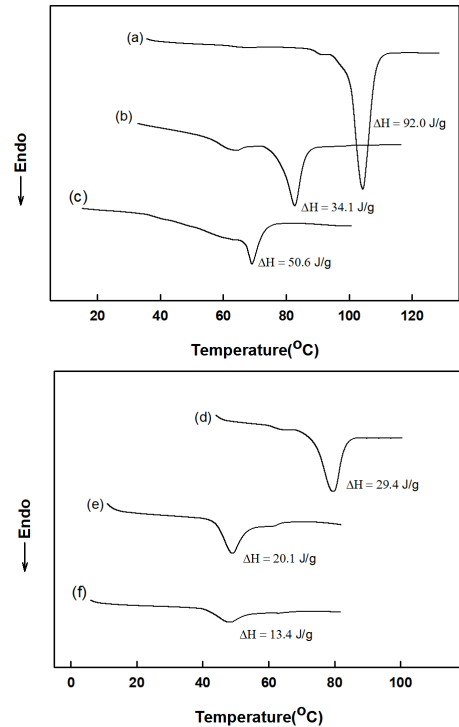
수 있다. HCS의 베시클이 파괴되는 이유는 베시클에 함유된 SDOC 성분 때문이다. SDOC는 deoxycholic acid의 짝염기 성분으로, 베시클 분산액을 알칼리성으로 만들고 첨가되는 젖산과는 중화반응을 통해 염전염물을 형성하게 된다. 예지 액티베이터인 SDOC는 수화 액정형 베시클을 나노 사이즈로 작게 만들어 베시클의 분산 안정화에 중요한 역할을 하는 때문에 SDOC를 배합하지 않고 베시클 형성이 어렵다. 따라서 본 연구에서는 SDOC에 가용화제를 첨가 혼합하여 SDOC 함량을 최소화하는 방안을 시도하였다. HCHS는 가용화제 HCO 60을 첨가 혼합함으로써 SDOC 함량을 1/10로 줄인 베시클 분산액으로, 산성물질에 대한 베시클의 안정성이 한층 높아짐을 확인할 수 있었다.

세라미이드에 HPC, 콜레스테롤 등의 지질과 SDOC, 가용화제 등을 혼합하였을 때 결정구조의 변화를 편광현미경으로 살펴보았다(Figure 3). (a)는 세라미이드만 에탄올에 녹인 후 물을 첨가 혼합하여 재결정화가 일어난 모습의 사진이다. 몰타 십자가(maltose cross) 형태로 정형화된 구정(spherulite)의 모습을 선명하게 볼 수 있는데, 이는 세라미이드 분자가 라멜라 층을 이루면서 방사형으로 배열하고 있음을 나타내는 것이다. 세라미이드에 HPC와 콜레스테롤을 혼합하여 만들어진 수화 액정상(b)은 전체적으로 구정으로 크게 성장하지 못하고 아주 작



**Figure 3.** Polarized microscope image of hydrated liquid crystalline phase (a) Cera/Ethanol/DW(1.2/0.6/2.0) (b) Cera/HPC/Chol/Ethanol/DW(0.4/0/7/0.1/0.6/2.0) (c) Cera/HPC/Chol/HCO60/SDOC/Ethanol/DW(0.4/0/7/0.1/0.09/0.01/0.6/2.0).

게 형성됨을 볼 수 있었다. 맨 아래 (c)는 (b)의 조성에 가용화제와 SDOC가 첨가된 수화 액정상을 관찰한 모습이다. Mosaic texture 형태의 모습이 흐릿하게 나타나고, 위쪽 사진의 모습들과는 다르게 투과되는 빛이 상당히 적어 사진이 어둡게 나타났다. 편광현미경의 편광자(polarizer)와 검광자(analyzer) 사이에서 복굴절되어 나오는 빛의 양이 적은 것은 시료 물질의 이방성(anisotropy)이 상대적으로 약함을 의미하고, 이는 세라미이드 등 혼합지질의 결정성이 감소했기 때문이다. 가용화제와 SDOC 혼합으로 결정성이 감소함은 시차주사 열량계(DSC)의 열차트 분석을 통해 확인할 수 있었다(Figure 4). 세라미이드 단독의 파우더(a)는 100 °C 이상의 온도에서 결정이 용융되기 시작하며 용융 엔탈피 값( $\Delta H$ )은 92.0 J/g으로 나타났다. HPC 단독의 파우더(b)는 60 °C에서 약간의 상전이가 나타나지만, 대부분의 용융은 80 °C 이상의 온도에서 진행되고 용융 엔탈피 값은 34.1 J/g으로 나타났다. 결정성이 높은 세라미이드가 HPC에 비해 용융점이 높고, 특히 용융 엔탈피 값에서는 큰 차이가 있음을 알 수 있다. 세라미이드를 높은 온도에서 소량의 에탄올에 녹인 후 냉각하여 만든 액정상(c)은 세라미이드의 용융온도가 크게 낮아지고, 동시에 용융피크의 폭도 상당히 넓



**Figure 4.** DSC thermogram of hydrated liquid crystalline phase of (a) Cera (b) HPC (c) Cera/Ethanol(1.2/0.6) (d) Cera/Ethanol/DW (1.2/0.6/2.0) (e) Cera/HPC/Chol/Ethanol/DW(0.4/0.7/0.1/0.6/2.0) (f) Cera/HPC/Chol/HCO60/SDOC/Ethanol/DW(0.4/0.7/0.1/0.09/0.01/0.6/2.0).

게 나타났다. 세라미이드를 에탄올에 녹인 후 다시 물을 첨가하여 재결정화된 조성물(d)을 살펴보면, 세라미이드의 용융온도가 80 °C 근처로 떨어지고 용융엔탈피 값은 29.4 J/g으로 나타났다. 조성물(d)에서의 세라미이드 비율이  $1.2/3.8 = 0.32$ 이기 때문에, 세라미이드 단독의 용융 엔탈피 값에 혼합 조성 비율을 곱한 값  $92 \times 0.32 = 29.4$  J/g과 거의 동일한 수준의 용융 엔탈피 값이 나타났다. 이런 결과값으로 부터 세라미이드는 에탄올, 물과의 혼합 조성에서도 결정성이 감소되지 않고 그대로 유지됨을 알 수 있다. 세라미이드를 HPC, 콜레스테롤과 혼합하여 에탄올에 녹인 후 물로 수화시킨 액정상(e)은 용융온도가 50 °C 근방으로 크게 낮아지고 용융엔탈피 값도 20.1 J/g 로 나타났다. 수화 액정상(e)의 조성에 가용화제 HCO 60과 SDOC까지 포함된 수화 액정상(f)을 살펴보면, 수화 액정상(e)와 비교해서 용융 온도는 거의 변화가 없지만 용융엔탈피 값이 13.4 J/g으로 크게 감소함을 알 수 있다. 여기서 얻은 수화 액정상(f)의 용융 엔탈피 값은 결정성 고체 물질인 세라미이드, HPC, 콜레스테롤의 용융 엔탈피에 각각의 혼합 조성 비율을 곱하여 계산된 값 17.5 J/g (콜레스테롤은 문헌[22]의 수치 73.7 J/g을 적용)보다도 낮은 수치이다. 따라서 가용화제 HCO 60과 SDOC는 세라미이드 혼합물의 결정성을 감소시키는 데 영향을 미치는 것으로 예측된다.

Figure 5에서는 성분과 조성을 달리하여 만든 여러 수화 액정형 베시클의 입자 사이즈를 비교하였다. 예지 액티베이터 기능을 하는 SDOC가 배합되지 않은 HC와 HCH는 다른 시료와 비교해서 입자 사이즈가 월등히 큰 값으로 나타났다. 베시클 막을 구성하는 세라미이드, HPC는 1에 가까운 packing parameter 값[23]을 갖고 있어 자기회합에서 라멜라 구조를 유지하려는 반면, SDOC는 packing parameter 값이 작기 때문에 구형(spherical)의 마이셀이나 베시클 형성에 유리하다. SDOC는 세라미



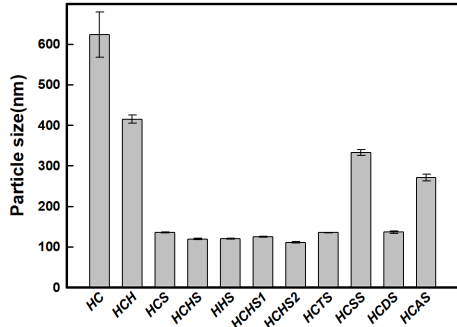


Figure 5. Comparison of particle size of HPC/ceramide vesicles with different component composition ( $P<0.05$ ).

이드, HPC의 라멜라 배열의 곡률반경을 높여 베시클이 작게 형성될 수 있도록 중요한 역할을 하기 때문에[21,24], 나노 사이드로 베시클을 안정적으로 만들기 위해서는 SDOC의 첨가가 꼭 필요하다.

SDOC가 0.1 함량(분산액 전체 대비 0.5 %)으로 배합된 HCS의 입자 사이즈는 130 nm이었다. SDOC 함량을 1/10로 줄이고(0.1→0.01) 줄인 양 만큼 가용화제를 대신 첨가하여 만든 시료 중에서, HCHS, HCTS, HCDS로 처방된 베시클은 HCS와 거의 비슷한 100 nm대의 입자 사이즈가 형성되었다. 하지만 HCSS와 HCAS 처방으로 만들었을 때는 베시클 입자 사이즈도 크고 분산액의 상태도 불안정해 보였다. 베시클이 작게 잘 만들어지는 HCHS, HCTS, HCDS 처방은 가용화제를 각각 HCO 60, TW 80, Emalex OD-16을 사용한 것인데, 이 3개의 가용화제는 친수성 머리 부분이 polyethylene glycol로 구성된 공통점이 있다. 베시클이 잘 안 만들어지는 나머지 두 가용화제는 친수성 부분이 polyglycerine으로 구성된 구조이다. 세 가용화제 중에서도 HCO 60로 만들었을 때, 베시클 입자 사이즈도 가장 작게 형성되고 분산액 외관도 가장 투명하게 만들어졌다. HPC의 함량을 약간 달리하거나 (HCHS, HCHS1, HCHS2), 콜레스테롤을 혼합하지 않았을 때(HHS)의 각 시료 간 베시클 입자 사이즈는 유의성 있게 크게 달라지지는 않았다.

SDOC가 베시클 분산액의 pH에 미치는 영향을 Figure 6에 나타내었다. SDOC가 배합되지 않은 HC와 HCH 시료는 pH가 5~6 사이의 약산성을 나타내지만 SDOC가 0.1 함량으로 배합된 HCS에서는 pH가 7.8로 크게 높아졌다. 앞서 언급한 바와 같이 약칼리성의 분산액을 피부에 직접사용이 어렵기 때문에 SDOC 함량을 최대한 줄이고자 여러 시도를 하였다. 그 결과 SDOC 함량을 0.01로 줄인 시료(HCHS, HHS)의 pH는 6.5 근처의 값으로 약산성 상태를 유지할 수가 있었다. 베시클 분산액의 안정성을 살피기 위해 제타 표면 전위 값을 측정하였다 (Figure 7). SDOC가 배합되지 않은 HC와 HCH는 제타 전위가 0 근처의 값으로 나타나지만, SDOC를 배합하였을 때 제타 전위는 최소 -20 mV 이상의 큰 음전하 값으로 나타났다. 베시클 입자 표면의 제타 전위가 큰 음의 값으로 나타날수록 입자끼리의 반발력이 더욱 크게 작용해 응집 현상을 방지하고 분산액의 안정성이 높아지게 된다[25,26]. SDOC의 배합으로 베시클 입자 사이즈가 크게 감소하고 또한 분산 안정성도 크게 높아지는 결과가 나타나는데, HCS에 비해 SDOC의 함량을 1/10로 줄인 HCHS, HHS도 제타 전위 값이 큰 변동 없이 비교적 안정된 범위의 값을 유지하였다.

베시클의 분산액의 장기보관 안정성을 살피기 위해, 시료를 40 °C 고온의 오븐에서 8주 동안 보관하면서 분산액의 점도 변화를 살펴보았다(Figure 8). SDOC가 배합되지 않은 HCH는 제조 직후부터 다른 시료에 비해 분산액의 점도가 높게 나타나고 보관 기간이 늘어나면서 분

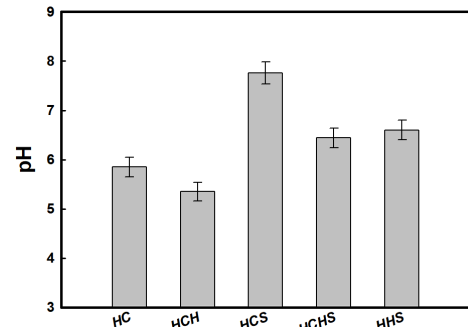


Figure 6. Comparison of pH of HPC/ceramide vesicle dispersion solutions with different component composition ( $P<0.05$ ).

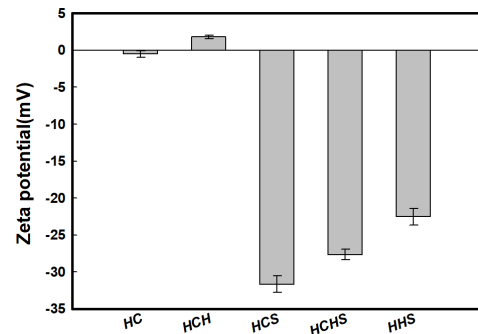


Figure 7. Comparison of zeta potential of HPC/ceramide vesicles with different component composition ( $P<0.05$ ).

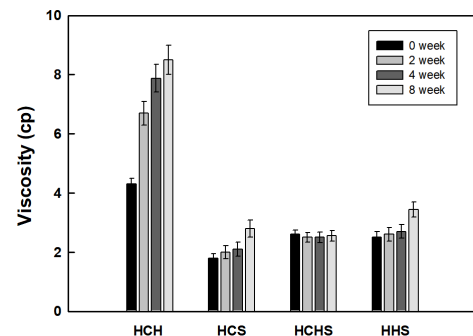


Figure 8. Change in viscosity of HPC/ceramide vesicle dispersion solutions with different component composition during storage period ( $P<0.05$ ).

산액이 점점 더 걸쭉한 상태로 변화하였다. 가용화제 배합 없이 SDOC 0.1 함량으로 만든 HCS가 다른 시료들에 비해 처음에는 점도가 가장 낮게 나타나지만, 보관 기간에 따라 점도가 서서히 증가하고 특히 8주가 지나면서는 점도가 크게 상승하는 것을 볼 수 있다. HCHS는 비교 대상 시료들 중에 유일하게 8주 동안 점도 변화 없이, 처음 상태 그대로의 안정성을 유지하였다. 콜레스테롤 배합 없이 만든 HHS는 8주가 지나면서 점도가 크게 상승하였다. 베시클은 오래 시간이 지나면서 베시클 막에 물이 침투되면서 팽윤이 일어나고 이로 인해 베시클 막이 파괴되면서 베시클 분산액이 불안정해지는 현상이 자주 일어난다. 콜레스테롤은 베시클 막을 더욱 견고하게 만들고 막 표면의 소수성을 높이는 역할을 하기 때문에[27,28], 콜레스테롤을 베시클 성분으로 소량 배합하면 물의 침투를 억제하여 베시클의 안정화를 기대할 수 있다.

## 4. 결 론

세라마이드, HPC에 콜레스테롤을 첨가하고 SDOC에 가용화제를 배합하는 혼합 조성을 구성하여 세라마이드가 2% 함유되는 고함량의 수화 액정형 베시클을 만들 수 있었다. 이러한 구성의 베시클은 입자 사이즈가 100 나노 대로 측정되었고, 제타 전위 분석을 통해 베시클 분산 안정성이 우수함을 확인하였다. 편광현미경과 DSC 열차트 분석을 통해, 가용화제 HCO 60는 에지 액티베이터인 SDOC와 함께 세라마이드, HPC, 콜레스테롤 등의 지질 성분의 결정성 억제에 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 베시클 분산액은 pH가 대략 6점 대인 약산성을 유지하였고 8주 동안의 고온 장기 보관에서도 분산액은 점도 변화 없이 안정성을 그대로 유지하였다.

## References

1. M. Aoki, K. Ogai, M. Kobayashi, T. Minematsu, T. Nakatani, M. Okuwa, H. Sanada, and J. Sugama, Comparison of ceramide retention in the stratum corneum between dry skin and normal skin using animal model with fluorescent imaging method, *Skin Res. Technol.* **25**, 158-164 (1999).
2. A. L. S. Chang, S. C. Chen, L. Osterberg, S. Brandt, E. C. Von Grote, and M. H. Meckfessel, A daily skincare regimen with a unique ceramide and filaggrin formulation rapidly improves chronic xerosis, pruritus, and quality of life in older adults, *Geriatr. Nurs.* **39**, 24-28 (2018).
3. A. W. Fulmer, and G. J. Kramer, Stratum corneum lipid abnormalities in surfactant induced dry scaly skin, *J. Invest. Derm.* **86**, 598-602 (1986).
4. R. A. Tupker, J. Pinnagoda, P. J. Coenraads, and J. P. Nater, Susceptibility to irritants: role of barrier function, skin dryness and history of atopic dermatitis, *Brit. J. of Derm.* **123**, 199-205 (1990).
5. E. Kahraman, M. Kaykın, H. Şahin Bektay, and S. Güngör, Recent advances on topical application of ceramides to restore barrier function of skin, *Cosmetics*, **6**, 52-63 (2019).
6. A. Rawlings, and R. Voegeli, Stratum corneum proteases and dry skin conditions, *Cell Tissue Res.*, **351**, 217-235 (2013).
7. A. Nakaune-Iijima, A. Sugishima, G. Omura, Kitaoka, H. Kitaoka, T. Tashiro, S. Kageyama, and I. Hatta, Topical treatments with acylceramide dispersions restored stratum corneum lipid lamellar structures in a reconstructed human epidermis model, *Chem. Phys. Lipids*, **215**, 56-62 (2018).
8. Z. Nemes, and P. M. Steinert, Bricks and mortar of the epidermal barrier, *Exp. Mol. Med.*, **31**, 5-19 (1999).
9. J. H. Lee, J. B. Lee, and M. S. Park, A cosmetic composition comprising a ceramide containing capsule, *KR patent* 10-2070557 (2020).
10. J. H. Hong and E. J. Kim, Macro-capsule containing ceramide and cosmetic composition comprising the same for moisturizing, *KR patent* 10-1826699 (2018).
11. Y. J. Kim, J. W. Shim, E. J. An, M. J. Kim, and J. W. Kim, Multi-layered lamellar granule and skin external application composition containing same, *KR patent* 10-1527580 (2015).
12. R. Su, L. Yang, Y. Wang, S. Yu, Y. Guo, J. Deng, Q. Zhao, and X. Jin, Formulation, development, and optimization of a novel octyldodecanol-based nanoemulsion for transdermal delivery of ceramide IIIB, *Int J Nanomedicine*, **12**, 5203-5221 (2017).
13. T. Gebre-Mariam, J. Wohrlab, E. N. Tessema, and R. H. Neubert, Potential applications of phyto-derived ceramides in improving epidermal barrier function, *Ski. Pharmacol. Physiol.* **30**, 115-138 (2017).
14. Y. Tokudome, Y. Saito, F. Sato, M. Kikuchi, T. Hinokitani, and K. Goto, Preparation and characterization of ceramide-based liposomes with high fusion activity and high membrane fluidity, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **73**, 92-96 (2009).
15. K. Vavrova, A. Kovacik, and L. Opalka, Ceramides in the skin barrier, *Eur. Pharm. J.* **64**, 1-8 (2017).
16. Q. Zhang, C. R. Flach, R. Mendelsohn, G. Mao, A. Pappas, M. C. Mack, R. M. Walters, and M. D. Southall, Topically applied ceramide accumulates in skin glyphs, *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **8**, 329-337 (2015).
17. W. G. Cho, K. A. Kim, S. I. Jang, and B. O. Cho, Behaviour of nanoemulsions containing ceramide IIIB and stratum corneum lipids, *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.*, **44(1)**, 31-37 (2018).
18. E. Yilmaz and H. H. Borchert, Design of a phytosphingosine-containing, positively charged nanoemulsion as a colloidal carrier system for dermal application of ceramides, *Eur J. Pharm. Biopharm.*, **60(1)**, 91-98 (2005).
19. M. S. Park, J. W. Choi, S-H, Lee, B. S. Jin, Preparation of hydrated liquid crystalline vesicle using mutual self-association between ceramide and phospholipid, *Appl. Chem. Eng.*, **31(5)**, 545- 551 (2020).
20. A. Di Nardo, P. Wertz, A. Giannetti, and S. Seidenari, Ceramide and cholesterol composition of the skin of patients with atopic dermatitis, *Acta Derm. Venereol.* **78**, 27-30 (1998).
21. S. Y. Lee, Y. M. Lim, and B. S. Jin, Effects of edge activator on the droplet size and skin permeation of hydrated liquid crystalline vesicles, *Appl. Chem. Eng.* **28(6)**, 679-684 (2017).
22. W. Chen, B. Su, H. Xing, Y. Yang, and Q. Ren, Solubilities of cholesterol and desmosterol in binary solvent mixtures of n-hexane+ethanol, *Fluid Phase Equilibria*, **287(1)**, 1-6 (2009).
23. E. Khazanov, A. Prieve, J. P. Shillemans and Y. Barenholz, Physicochemical and biological characterization of ceramide-containing liposomes: paving the way to ceramide therapeutic application, *Langmuir*, **24(13)**, 6965-6980 (2008).
24. A. Hussain, S. Singh, D. Sharma, T. J. Webster, K. Shafaat, and A. Faruk, Elastic liposomes as novel carriers: recent advances in drug delivery, *Int J Nanomedicine*, **17**, 5087-5108 (2017).
25. M. N. Jones, The surface properties of phospholipid liposome systems and their characterization, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **54**, 93-128 (1995).
26. E. H. Lee, A. Kim, Y. K. Oh, and C. K. Kim, Effect of edge activators on the formation and transfection efficiency of ultra-deformable liposomes, *Biomaterials*, **26(2)**, 205-210 (2005).
27. S. Vemuri, and C. T. Rhodes, Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: A review. *Pharmaceutica Acta Helveticae*. **70**, 95-111(1995).
28. D. Marsh, and I. Smith, Headgroup conformation and lipid-cholesterol association in phosphatidylcholine vesicles, *Biochim. Biophys. Acta*, **298**, 133-144 (1973).

## Authors

Min Seon Park; B.Sc., Graduate Student, Division of Chemistry and Cosmetics, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea; 20204010@dongduk.ac.kr

Byung Suk Jin; Ph.D., Professor, Division of Chemistry and Cosmetics, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea; bsjin@dongduk.ac.kr