

## 탄성 리포솜을 사용한 퀘세틴의 경피 전달: 제조, 특성 그리고 *In Vitro* 피부 투과 연구

박수남<sup>†</sup> · 임명선 · 박민아 · 권순식 · 한섯별

서울과학기술대학교 정밀화학과, 나노바이오 화장품 연구실, 화장품종합기술연구소  
(2012년 4월 10일 접수, 2012년 6월 18일 수정, 2012년 6월 26일 채택)

### Transdermal Delivery of Quercetin Using Elastic Liposomes: Preparation, Characterization and *In Vitro* Skin Permeation Study

Soo Nam Park<sup>†</sup>, Myoung Sun Lim, Min A Park, Soon Sik Kwon, and Seat Byeol Han

Department of Fine Chemistry, Nanobiocosmetic Laboratory, and Cosmetic R&D Center,  
Seoul National University of Science and Technology, 232 Gongreung-ro, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea

(Received April 10, 2012; Revised June 18, 2012; Accepted June 26, 2012)

**초록:** 본 연구에서는 일반 리포솜의 단점을 보완하기 위하여 인지질(PC)과 계면활성제(Tego<sup>®</sup> care 450)로 구성된 탄성 리포솜을 제조하였다. 탄성 리포솜의 유효성분으로 천연 항산화제로 알려진 퀘세틴을 담지하였고, 탄성 리포솜의 입자크기 및 가변형성과 퀘세틴의 포집 효율, 안정성, *in vitro* 피부투과를 평가하였다. 퀘세틴을 담지한 탄성 리포솜의 평균 입자크기는 208.2~303.4 nm이었고, 포집효율은 64.1~87.5%로 측정되었다. 0.1% 퀘세틴을 담지한 탄성 리포솜 중에서 인지질과 계면활성제 비율이 90 : 10인 경우가 가장 높은 포집효율(87.5%)과 가변형성 지수(28.3)를 나타내었다. 이 제형을 대상으로 피부 투과 실험을 진행하였다. 그 결과 대조군으로 사용된 일반 리포솜(114.8 µg/cm<sup>2</sup>)과 1,3-butylene glycol(75.1 µg/cm<sup>2</sup>) 용액보다 탄성 리포솜의 피부 투과능(164.6 µg/cm<sup>2</sup>)이 훨씬 더 크게 나타났다. 이러한 결과들로 미루어 보아 Tego<sup>®</sup> care 450을 이용한 탄성 리포솜이 피부를 통한 유효성분 전달에 유용하게 이용될 수 있음을 확인하였다.

**Abstract:** In this study, the elastic liposome consisted of egg phospholipids and edge activator (Tego<sup>®</sup> care 450) was prepared in order to supplement the defect of the conventional liposome. We prepared elastic liposome containing quercetin, known as natural antioxidant, and evaluated the vesicles size, elasticity, loading efficiency, stability, and *in vitro* skin permeation. The mean diameter of quercetin loaded elastic liposome formulations ranged between 208.2~303.4 nm and loading efficiency was observed 64.1~87.5%. The highest loading efficiency (87.5%) and deformability (28.3) were observed at the optimal ratio of 90 : 10 (egg phospholipids : Tego<sup>®</sup> care 450) among 0.1% quercetin loaded elastic liposome formulations. The elastic liposome formulation was selected for further transdermal permeation study. The elastic liposome (129.9 µg/cm<sup>2</sup>) exhibited more skin permeability than general liposome (114.8 µg/cm<sup>2</sup>) and 1,3-butylene glycol (75.1 µg/cm<sup>2</sup>) solution. This results suggest that the elastic liposome formulation using Tego<sup>®</sup> care 450 as a major edge activator could be useful for the delivery of active ingredient through the skin transdermal.

**Keywords:** elastic liposome, quercetin, Tego<sup>®</sup> care 450, Franz diffusion cells, skin permeation.

## 서 론

피부의 최외각층인 각질층은 각질세포들로 쌓여 있고 그 사이는 지질성분으로 이루어진 구조로 되어 있으며 피부 장벽으로서의 기능을 나타낸다. 이러한 구조적 특징으로 인하여 각질층은 유효성분의 피부 흡수에 있어서도 가장 큰 장벽으로 작용하고 있다. 유효성분이 피부로 흡수되는 경피 흡수

경로는 피부 각질세포를 직접 투과(transcellular pathway)하기보다는 피부 각질세포 사이의 지질층을 통한 투과(intercellular pathway)가 더욱 효과적인 것으로 알려져 있다. 따라서 지질을 주성분으로 하는 소포체를 사용하여 유효성분을 피부 내부로 전달하기 위한 피부 흡수 전달시스템의 개발 연구가 관심을 모으고 있다.<sup>1,2</sup>

피부 흡수 전달시스템 중에서 리포솜은 생체 친화성이 높고, 다양한 유효성분을 생체 내로 전달할 수 있다는 장점을 가지고 있어서 의약품 및 화장품 분야에서 널리 사용되어 왔다. 하지만, 리포솜은 낮은 포집 효율, 제형 내에서의 낮은 유

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: snpark@soultech.ac.kr

화 안정성 등의 문제가 제기되고 있다. 또 다른 문제점은 피부에 깊게 침투하지 못하고 각질층의 위쪽 부분에만 존재한다고 알려져 있다.<sup>3</sup> 따라서 유효성분의 피부 투과 능력을 개선시키기 위한 목적으로 막이 유연하게 변형되어 각질 세포 사이의 좁은 틈을 더 잘 통과하도록 유연하고 탄성이 있는 새로운 베지클들이 개발되고 있다.<sup>4</sup>

Cevc은 기존 리포솜의 문제점을 극복할 수 있는 전달체인 transfersomes, deformable lipid vesicles 또는 탄성 리포솜 (elastic liposome)으로 불리는 리포솜 시스템을 제안하였다. 탄성 리포솜은 인지질과 계면활성제로 구성된다. 단일 사슬 계면활성제의 높은 곡률 반경 때문에 소포체의 지질 이중층 막을 불안정하게 하여 소포체 막의 가변형성을 증가시킨다. 이러한 성질 때문에 탄성 리포솜은 일반 리포솜에 비해 각질층을 쉽게 통과할 수 있어 유효성분을 피부 내로 전달할 수 있는 능력이 높다. 탄성 리포솜에 의해 개선된 유효성분의 전달은 경표피 삼투압 기술의 영향으로 각질층의 세포간 지질 경로로 빠르게 침투할 수 있다고 보고되었다.<sup>5,7</sup>

지금까지 탄성 리포솜에 관한 연구에서 sodium cholate, Tween 80, Span 80, dipotassium glycyrrhizinate 등의 계면활성제가 일반적으로 사용되었다.<sup>7,8</sup> 화장품 제형에 널리 사용되는 polyethylene glycols(PEG)는 보습 상태를 유지하는 무독성 수용성 고분자 물질로 자체는 독성이 없지만 화장품 제조 공정에서 1,4-dioxane이 부산물로 생성될 수 있다는 보고와 손상된 피부에서 전신성 독성과 민감성 피부 반응이<sup>9</sup> 보고되었기 때문에 최근에 PEG가 함유되지 않은 PEG-free 계면활성제의 사용이 증가하는 추세에 있다. 이러한 계면활성제의 예로 Tego® care 450(polyglyceryl-3 methylglucose distearate) 등이 있으며, 저자들은 이미 Tego® care 450을 이용한 탄성 리포솜을 제조하고 이들의 물리화학적 특성에 관하여 보고한 바 있다.<sup>4</sup>

자외선은 광노화 및 이들과 관련된 여러 가지 피부 질환을 유발한다. 자외선에 노출된 피부에서는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 생성된다. 활성산소는 피부노화의 원인 물질로 작용하며, 정상적인 대사과정이나 질병상태, 스트레스를 받을 때도 생성된다. 피부에는 활성산소에 의한 산화적 손상을 예방하고 차단하기 위하여 항산화 방어망이 구축되어 있다. 그 예로 효소적 항산화제인 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase 등과 vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -carotene, flavonoids 등의 비효소적 항산화제가 존재한다. 이들은 활성산소를 직접 소거하거나 또는 활성산소에 의한 연쇄 반응을 차단하여 세포 및 피부 구성 성분들을 산화적 손상으로부터 보호한다.<sup>10</sup> 하지만, 과도한 산화적 스트레스에 노출될 경우 항산화 방어 시스템이 붕괴되어 노화가 가속화된다. 생체내 활성산소를 효율적으로 소거하고 피부노화를 지연시키기 위한 화장품 소재를 개발하고자 천연 항산화제인 플라보노이드를 이용하려는

연구가 최근 많이 진행되고 있다.

플라보노이드는 식물계에 널리 존재하는 폴리페놀계 화합물로서 항산화작용, 항염작용, 미백작용 등 높은 생리 활성을 가지고 있다. 이러한 플라보노이드 중 퀴세틴은 매우 큰 항산화능과 라디칼 소거능,  $^1O_2$ 으로 유도된 세포 손상에서 있어서 현저한 세포보호 효과를 나타내었다.<sup>11-13</sup> 그러나 퀴세틴은 수용액에 거의 녹지 않는 소수성 물질로서 다양한 분야에서 널리 활용하는데 어려움이 많기 때문에 화장품 원료로서도 사용에 제한이 따르고 있다. 따라서 이 논문에서는 퀴세틴을 피부로 전달하기 위하여 비이온 계면활성제인 Tego® care 450을 이용하여 탄성 리포솜에 담지하였다. 또한 퀴세틴이 포집된 탄성 리포솜의 물리적 특성 및 제형의 안정성, Franz diffusion cell을 이용하여 피부 투과력을 평가하였다. 이러한 연구를 통하여 퀴세틴을 효과적으로 피부로 전달하기 위한 최적의 탄성 리포솜의 조건 및 화장품 원료로서의 사용 가능성을 제시하였다.

## 실 험

**시약 및 재료.** 실험에 사용된 인지질은 계란 노른자 위에서 얻은 L- $\alpha$ -phosphatidylcholine(egg PC, ~ 60%)은 Sigma (USA)사의 제품을 사용하였고, 에탄올과 클로로포름 등의 용매는 시판 특급시약을 사용하였다. 리포솜 제형 제조 시에 회전 증발기(Buchi, Switzerland)와 초음파 파쇄기(Branson, USA)를 사용하였고, 제형의 입자 크기는 ELS-Z(Otsuka, Japan)를 사용하여 측정하였다. 피부 투과 실험에 사용한 Franz diffusion cell은 PermeGear(USA)사의 9 mm Franz diffusion cell(receptor volume 5 mL)과 V6A stirrer 모델을 사용하였다. 퀴세틴의 정량분석을 위해 HPLC(high performance liquid chromatography)는 Shimadzu(Japan)사의 제품을 사용하였다. HPLC는 Shimadzu(Japan)의 LC-20AT pump와 SPD-M20A UV-Vis detector으로 구성되어 있으며, 컬럼은 Shimadzu (Japan)의 Shim-pack(VP-ODS) C18 analytical column(5  $\mu$ m, 250  $\times$  4.6 mm)을 사용하였다. 또한 리포솜의 가변형성 측정을 위하여 mini extruder(Avanti® Polar lipids)와 syring pump (KDS330, Revodix Korea)의 제품을 사용하였다.

**탄성 리포솜 제조.** 탄성 리포솜의 제조는 얇은 막 수화법에 의하여 다음과 같이 제조하였다. 50 mL 둥근 바닥 플라스크에 퀴세틴 0.1%를 넣은 후, egg PC와 Tego® care 450을 각 다른 비율(100 : 0, 95 : 5, 90 : 10, 85 : 15, 80 : 20)로 넣어 15 mL의 클로로포름에 용해시켰다. 유기용매는 회전 증발기를 이용하여 제거하면 플라스크 벽면에 지질막이 형성된다. 생성된 얇은 지질막을 phosphate buffer(1.6 mM  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ , 9.6 mM  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ , pH 7.4) 10 mL로 수화하여 탄성 리포솜을 형성시킨다. 이렇게 얻어진 탄성 리포솜의 입자 크기를 균일하게 하기 위하여 glass bead를 넣

고 30분 동안 초음파 파쇄기를 가해주었다. 탄성 리포솜 제형의 최종 지질 농도는 0.5%(w/v)이고, 퀴세틴의 농도는 0.1%(w/v)로 하였다.

**입자크기 측정.** 탄성 리포솜의 입자크기와 입도분포는 빛의 산란을 이용하여 입자크기를 분석하는 Otsuka ELS-Z series를 이용하여 측정하였다. He-Ne laser를 이용하여 측정하였으며 입자크기는 누적 분석법을 이용하였다. 또한 입경 분포 해석방법은 Contin을 이용하여 입경분포를 구하였다.

**포집효율 측정.** 완성된 탄성 리포솜 현탁액 일정량을 취하고 1.2  $\mu\text{m}$  syringe filter(Minisart CA 26 mm)를 이용하여 탄성 리포솜 내 포집되지 않은 퀴세틴을 제거한다. 그 후 에탄올을 이용하여 탄성 리포솜의 막을 파괴시킨 다음 에탄올을 회전 증발기를 이용하여 증발시키고 다시 1 mL의 에탄올을 넣어준다. HPLC를 이용해 탄성 리포솜에 포집된 퀴세틴을 정량하였다. 또한 농도별 퀴세틴의 검량선을 작성한 탄성 리포솜에 포집된 퀴세틴의 농도를 산출하였고, 탄성 리포솜의 포집효율은 다음에 나타난 식 (1)에 의해 계산하였다.

$$\text{Loading efficiency(\%)} = \frac{(T-P)}{T} \times 100 \quad (1)$$

T: 처음 넣어준 퀴세틴 농도

P: 1.2  $\mu\text{m}$  syringe filter를 통과하지 못한 퀴세틴 농도

**탄성 리포솜의 가변형성 측정.** 제조된 탄성 리포솜의 가변형성 평가를 위해 mini extruder를 사용하여 탄성 리포솜이 인공 투과장벽을 통과하는 정도를 측정하였다. 탄성 리포솜 현탁액을 0.2 MPa의 압력을 1분간 가했을 때 0.08  $\mu\text{m}$  크기의 기공을 갖는 polycarbonate membrane을 통과하여 나온 리포솜 현탁액의 양을 측정하고 membrane을 통과한 리포솜 입자크기를 측정하였다.

탄성 리포솜 막의 탄성 값은  $J_{\text{flux}} \times (r_v/r_p)^2$ 에 비례한다.<sup>14,15</sup>

$$\text{Elasticity} = J_{\text{flux}} \times (r_v/r_p)^2 \quad (2)$$

여기서,  $J_{\text{flux}}$ 는 membrane을 통과한 리포솜의 양을 나타내고,  $r_v$ 는 extrusion 후 리포솜의 입자크기,  $r_p$ 는 membrane의 기공 크기를 말한다.

***In Vitro* 피부 투과 실험(Franz Diffusion Cell).** 탄성 리포솜이 퀴세틴의 피부 투과 증진에 어떠한 효과를 주는지 확인하기 위해 Franz diffusion cell을 이용하여 피부 투과 실험을 진행하였다. 피부 투과 실험에 사용한 쥐의 피부는 경추 탈골로 치사시킨 ICR outbred albino mice(8주령, 암컷)의 등에서 적출하여 사용하였다. 적출한 피부는 피하지방과 조직을 제거한 후 사용하였다. Receptor chamber에 receptor phase (HCO-60 : Ethanol : PBS = 2 : 20 : 78(w/v/v%)) 5 mL를 채운 후 각질층이 위로 향하도록 donor와 receptor phase 사이에

피부를 고정시켰다. 실험이 진행되는 동안 항온수조를 이용해 온도를  $37 \pm 1$  °C로 유지하였다. 각 시료 0.2 mL를 donor를 통하여 피부 표면에 가한 후 시간에 따라 매 회 0.5 mL의 receptor phase를 sampling port를 통하여 채취하였다. 채취 직후 동량의 receptor phase를 receptor chamber에 보충하였다. 채취한 시료 속 퀴세틴의 양은 HPLC를 이용하여 측정하였다.

24시간 후 각질층과 피부에 남아있는 퀴세틴의 양을 측정하기 위해 쥐의 피부를 PBS로 3회에 걸쳐 세척하였다. 세척 후 receptor phase와 닿지 않은 부분을 잘라내고 남은 부분에 대해 tape stripping법을 이용해 각질층에 남아있는 퀴세틴의 양을 따로 측정하였다. 각질층에 남아있는 퀴세틴의 양을 측정하기 위해 테이프를 이용하여 피부의 각질층 부분을 3회 벗겨내었으며 이렇게 얻어진 테이프에 10 mL의 에탄올을 넣고 1시간 동안 초음파 세척기를 이용하여 퀴세틴을 추출하였다. 그 후 회전증발기를 이용하여 에탄올을 증발시키고 추출된 퀴세틴을 0.5 mL의 receptor phase에 녹여내었다. Tape stripping법을 거친 후 각질층이 제거된 피부는 수술용 가위를 이용해 세절하였고 세절한 피부의 처리는 tape과 동일하게 진행하였다. 이렇게 얻어진 시료 속 퀴세틴의 양은 HPLC를 이용하여 측정하였다.

**통계처리.** 모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5% 유의수준에서 student's *t*-test를 행하였다.

## 결과 및 토론

**탄성 리포솜의 입자크기.** 탄성 리포솜의 구성 성분과 조성을 Table 1에 나타내었다. Mini extruder를 이용하여 탄성 리포솜의 압출 전과 후의 평균 입자크기를 Table 1에 나타내었다.

빈 탄성 리포솜(EL-)의 경우 평균 입자크기는 EL-1은 161.3 nm, EL-2는 107.9 nm로 측정되었고, 인지질과 계면활성제의 비율이 80 : 20인 EL-5의 경우는 입자크기가 137.3 nm로 나타났다. 퀴세틴을 포집한 탄성 리포솜(ELQ-)은 ELQ-2는 259.1 nm, ELQ-3은 235.8 nm로 단분산 형태의 일정한 크기를 갖는 입도분포를 보여주었다. 계면활성제의 농도가 20%인 ELQ-5(220.0 nm)의 경우는 ELQ-4(15%, 266.8 nm)보다 작은 입자 크기를 나타내었다.

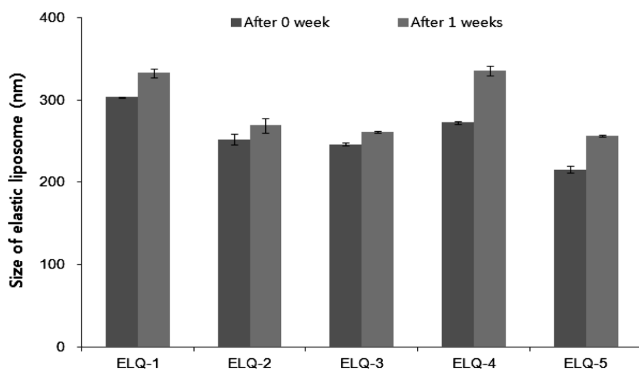
빈 탄성 리포솜과 퀴세틴을 담지한 탄성 리포솜(ELQ-)의 입자 크기의 차이는 퀴세틴은 소수성 물질로서 인지질과 계면활성제와 함께 리포솜 이중층에 결합된 것으로 예상될 수 있다. 따라서 퀴세틴을 담지한 리포솜(ELQ-)이 빈 리포솜(EL-)보다 큰 입자크기를 나타낸 것을 알 수 있었다.

탄성 리포솜의 저장 기간에 따른 입자 크기 변화는 리포솜 막의 물리적 안정성을 평가하는데 중요하다. 일반적으로 리포솜 막이 불안정해지면 리포솜 입자간의 간격이 좁아지게 되면서 입자크기가 커지는 경향이 있는 것으로 보고되고 있

**Table 1. Compositions and Sizes of Elastic Liposomal Formulations before and after Extrusion through Polycarbonate Membrane with a Pore Size of 80 nm**

Formulation code	PC <sup>a</sup> : S <sup>b</sup> (%w/w)	Quercetin(mg)	Size before extrusion(nm)	Size after extrusion(nm)
EL <sup>c</sup> -1	100 : 0	-	161.3±1.1	114.5±9.1
EL <sup>c</sup> -2	95 : 5	-	107.9±6.2	106.6±5.1
EL <sup>c</sup> -3	90 : 10	-	121.6±5.1	125.4±5.1
EL <sup>c</sup> -4	85 : 15	-	95.4±6.1	96.7±3.3
EL <sup>c</sup> -5	80 : 20	-	137.3±4.2	136.1±1.6
ELQ <sup>d</sup> -1	100 : 0	10.0	303.4±4.2	303.3±2.9
ELQ <sup>d</sup> -2	95 : 5	10.0	259.1±18.4	252.4±17.4
ELQ <sup>d</sup> -3	90 : 10	10.0	235.8±16.6	228.1±17.6
ELQ <sup>d</sup> -4	85 : 15	10.0	266.8±6.7	264.1±4.0
ELQ <sup>d</sup> -5	80 : 20	10.0	222.0±5.8	208.2±9.8

<sup>a</sup>PC : Egg phosphatidylcholine. <sup>b</sup>S : Tego<sup>®</sup>care 450. <sup>c</sup>EL : Elastic liposomal formulation. <sup>d</sup>ELQ : Quercetin loaded elastic liposomal formulation. Values represent Mean ± SD (n = 3).

**Figure 1.** Changes in size of elastic liposomes containing quercetin during 1 week.

다. 본 연구에서 제조한 퀘세틴 함유 탄성 리포솜을 제조한 직후와 일주일 후(4 °C에 보관)에 입자크기에 변화가 있는지 알아보았다. 제조 후 일주일이 경과된 탄성 리포솜의 입자크기를 측정해본 결과, 입자크기는 제조 직후와 큰 차이가 없었고(Figure 1) 일주일 후에도 막이 깨지거나 또는 층 분리 현상이 관찰되지 않았다. 따라서 제조된 탄성 리포솜들은 일주일간 그 안정성이 유지됨을 확인할 수 있었다.

**탄성 리포솜의 가변형성.** 계면활성제에 의한 리포솜 막의 가변형성은 탄성 리포솜 고유의 독특한 성질이자 다른 리포솜 제형과의 차이점이기도 하다. 이러한 탄성 리포솜은 일반 리포솜과 비교했을 때보다 쉽게 각질층을 통과할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 따라서 본 연구에서는 계면활성제의 함량을 증가시키면서 탄성 리포솜 제형의 가변형성 지수를 측정하였다(Table 2).

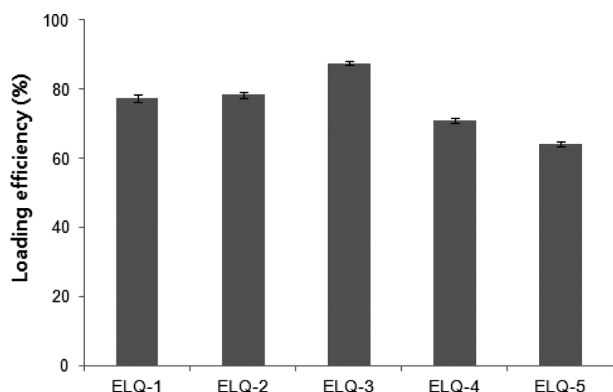
퀘세틴을 담지한 ELQ-3와 ELQ-4를 비교해보면, 계면활성제 함량이 10%인 ELQ-3의 입자크기는 235.8 nm로 계면활

**Table 2. Deformability Index Value of Elastic Liposomal Formulation**

Formulation code	Deformability index
ELQ-1	13.9±0.3
ELQ-2	24.5±1.0
ELQ-3	28.3±0.5
ELQ-4	23.7±0.7
ELQ-5	21.8±0.3

성제 함량이 20%인 ELQ-5(222.0 nm)보다 입자크기가 크게 나왔다. 하지만, 가변형성 지수는 계면활성제 양이 적은 ELQ-3가 28.3이고 계면활성제 양이 많은 ELQ-5가 21.8으로 ELQ-3의 가변형 지수가 큰 것을 알 수 있다. 따라서 계면활성제의 양이 일정 농도 증가하면 가변형성 지수가 감소함을 알 수 있다. 이는 계면활성제의 농도가 어느 정도 증가하면 탄성 리포솜 내에 존재하는 계면활성제 이외에 용액 내에 별도의 보다 많은 미셀이 형성된 결과 때문인 것으로 생각되고 있다. 따라서 ELQ-5의 입자크기는 작게 측정되었고, 또한 가변형성이 감소한 결과를 나타낸 것으로 판단된다. 이러한 결과는 계면활성제의 비율이 일정 이상이 되면 계면활성제가 탄성 리포솜 뿐만 아니라 미셀을 형성하기 때문에 가변형성이 감소하는 결과를 나타낸다는 이전 보고와도 일치하는 결과임을<sup>16,17</sup> 알 수 있었다. 이러한 결과로 미루어 보아, 퀘세틴을 담지한 탄성 리포솜의 가변형성 지수는 계면활성제의 농도에 영향을 받는다는 것을 알 수 있었다.

**탄성 리포솜의 포집효율.** 탄성 리포솜에 포집된 퀘세틴의 포집효율은 Figure 2에 나타내었다. 탄성 리포솜에 포집된 퀘세틴양을 측정하기 위해서 HPLC를 이용하였다. 결과적으로 퀘세틴의 포집효율은 계면활성제의 농도에 의존하며, 계면활



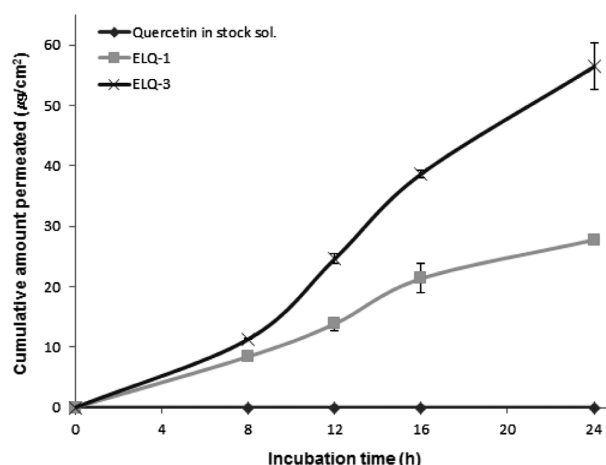
**Figure 2.** Loading efficiency of elastic liposomal formulations containing quercetin.

성제의 함량이 증가할수록 퀘세틴의 포집효율은 증가하는 것을 확인하였다.

계면활성제가 없는 제형인 ELQ-1의 경우 77.4%의 포집효율을 갖는 것을 알 수 있다. 계면활성제를 포함하는 제형인 ELQ-2와 ELQ-3에서 포집효율은 78.3%와 87.5%로 측정되었으며, ELQ-3의 경우 실험한 제형 중에서 가장 큰 포집효율을 나타내었다. 계면활성제의 농도가 15.0% 및 20.0%인 ELQ-4와 ELQ-5의 포집효율은 각각 70.9%, 64.1%로 ELQ-3 제형보다도 낮은 포집효율을 나타내었다. 이는 위에서 설명한 탄성 리포솜의 가변형성에서처럼 혼합 미셀 형성이 포집효율에도 영향을 미치는 것으로 판단된다.

다시 말해, 특정 농도 이상의 계면활성제가 사용되었을 때 미셀이 형성되어 제형 내에 미셀과 리포솜이 혼합되므로 리포솜의 포집효율을 감소시켜서 오히려 피부에 자극을 일으킬 수도 있고 활성 물질의 피부 전달 시스템의 효율을 낮춘다는 이전의 보고와도 일치하는 결과를 나타내었다.<sup>16-18</sup>

**탄성 리포솜의 *In Vitro* 피부 투과 실험(Franz Diffusion Cell).** Franz diffusion cell을 이용하여 퀘세틴을 담지한 탄성 리포솜의 피부 투과 능력을 평가하였다. 실험에서는 높은 가변형성과 최적화된 계면활성제 10%(w/w)의 제형인 ELQ-3와 일반 리포솜인 ELQ-1, 그리고 보습 효과는 있지만 피부 자극은 거의 없는 1,3-butylene glycol을 대조군 용액으로 사용하였다. 또한 탄성 리포솜의 피부 투과는 수분 기울기(hydration gradient)에 의해 피부에 침투되어 약물을 피부로 전달하므로 샘플 투여부위를 밀폐하지 않은 상태(non-occluded condition)의 조건에서 실시하였다. 피부 일정 면적(0.6362 cm<sup>2</sup>)에 대한 시간별 퀘세틴의 투과량은 Figure 3에 나타내었다. 퀘세틴을 담지한 탄성 리포솜인 ELQ-3는 대조군에 비하여 시간별 퀘세틴의 투과량이 유의적으로 크게 나타났다. ELQ-3과 일반 리포솜인 ELQ-1은 8시간까지는 시간 의존적으로 추출물의 투과량이 증가하였다. 하지만, 퀘세틴을 용해시킨 1,3-butylene glycol 용액(quercetin in stock solution)에서는

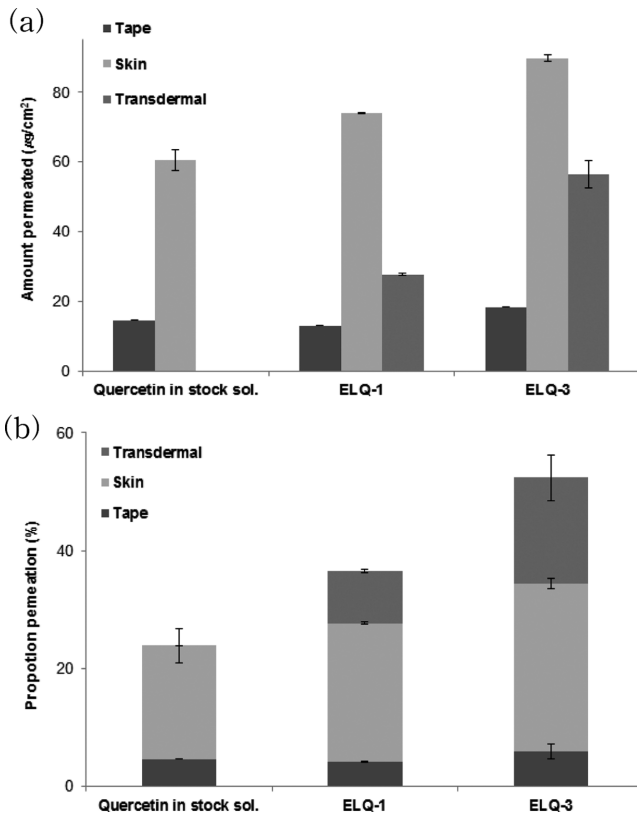


**Figure 3.** *In vitro* skin permeation profiles of 1,3-butylene glycol solution and ELQ-1, ELQ-3 containing quercetin extract through ICR albino mouse skin.

24시간까지 피부를 통과하지 않은 것으로 나타났다. 따라서 24시간 후 퀘세틴의 누적 투과량(transdermal)은 1,3-butylene glycol 용액의 경우 0.0 µg/cm<sup>2</sup>이었고, ELQ-1은 27.8 µg/cm<sup>2</sup>, ELQ-3은 56.4 µg/cm<sup>2</sup>으로 초기 적하량 314.4 µg/cm<sup>2</sup>에 대하여 각각 8.8% 및 18.0%의 투과율을 나타내었다(Figure 3).

Figure 4는 24시간 후, 각질층에 존재하는 퀘세틴(tape), 각질층을 제외한 표피+진피에 존재하는 퀘세틴(skin), 그리고 피부를 통과하여 receptor phase에 존재하는 퀘세틴(transdermal)의 함량을 나타낸 것이다.

각질층에 존재하는 퀘세틴의 함량(tape)은 1,3-butylene glycol 용액의 경우는 4.6%였고, ELQ-1이 4.1%, ELQ-3의 경우 5.8%로 나타났다. 각질층을 제외한 피부(표피+진피)로 침투된 퀘세틴의 함량(skin)은, 1,3-butylene glycol과 ELQ-1, ELQ-3에서 각각 60.5, 74.0, 89.7 µg/cm<sup>2</sup>(Figure 4(a))로 초기 적하량에 대한 퀘세틴의 침투율로 환산할 경우 각각 19.3 및 23.5, 28.5%로 탄성 리포솜 제형인 ELQ-3(90 : 10)의 경우 표피와 진피에 존재하는 퀘세틴의 양이 훨씬 많은 것으로 나타났다. 피부를 통과하여 receptor phase에 존재하는 퀘세틴(transdermal)의 함량 비율은 1,3-butylene glycol과 ELQ-1, ELQ-3이 각각 0.0 및 8.8, 18.0%로 ELQ-3이 다소 투과량이 크게 나타났음을 보여주고 있다(Figure 4(b)). 피부에 침투된 퀘세틴의 총 함량은 초기 적하량 314.4 µg/cm<sup>2</sup>에 대하여 1,3-butylene glycol과 ELQ-1, ELQ-3에서 각각 75.1 및 114.8, 164.6 µg/cm<sup>2</sup>으로 측정되었다. 이를 초기 적하량에 대한 퀘세틴의 피부 흡수율로 환산하면 각각 23.9, 36.5 및 52.3%이었으며, 이는 탄성 리포솜 제형을 이용할 경우 더 많은 양의 퀘세틴이 피부로 전달되었음을 나타내는 결과이다. 이러한 결과는 탄성 리포솜에 첨가된 계면활성제가 지질 이중층 막을 불안정하게 하여 높은 유연성을 갖게 하고,<sup>19</sup> 이러한 지질 이



**Figure 4.** Proportions of permeated amount of 1,3-butylene glycol solution (quercetin) and ELQ-1, ELQ-3 containing quercetin through ICR albino mouse skin after 24 h incubation (Tape: stratum corneum, Skin: epidermis without stratum corneum plus dermis, Transdermal: receptor chamber).

중층 막의 유연성으로 인하여 탄성 리포솜은 대조군에 비하여 더 높은 피부 투과능을 나타내게 된다. 따라서 피부로 침투한 퀘세틴의 총 함량을 측정된 결과 ELQ-1과 ELQ-3를 비교해 보면 계면활성제에 의해 약 1.4배 더 많은 퀘세틴을 피부로 전달하였음을 확인할 수 있었다.

## 결론

본 연구에서는 항산화 및 항노화 활성이 우수한 플라보노이드인 퀘세틴의 피부 전달을 증진시키기 위하여 탄성 리포솜을 제조하였으며, 탄성 리포솜의 물리화학적 특성 및 피부 투과 능력을 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- (1) 0.1% 퀘세틴을 함유한 탄성 리포솜은 구성 성분 및 비율을 다르게 하여 최적화된 탄성 리포솜 제형을 제조하였다.
- (2) 퀘세틴을 함유하지 않은 빈 리포솜은 107.9~161.3 nm의 크기를 나타내었고, 퀘세틴을 담지한 ELQ-3의 경우 220~300 nm로 단분산 형태의 일정한 입도분포를 나타내었다. 또한 구성 성분인 계면활성제의 비율이 증가할수록 리포솜의 입자크기가 증가하였지만 일정 농도 이상(10% w/w)에서는

입자크기가 다시 감소하는 경향을 나타내었다.

(3) 계면활성제 함량을 증가시키며 탄성 리포솜 제형의 가변형성 지수를 측정하였는데 ELQ-5(21.8)이고 ELQ-3(28.3)으로 계면활성제의 농도가 증가할수록 탄성 리포솜 뿐만 아니라 혼합된 미셀을 형성하기 때문에 가변형성이 감소하는 경향을 나타내었다.

(4) 탄성 리포솜에 포집된 퀘세틴의 포집효율은 ELQ-1의 경우 77.4%와 ELQ-2(78.3%), ELQ-3(87.5%)로 나타났으며, 포집효율은 계면활성제의 농도에 의존하며, 계면활성제의 함량이 증가할수록 퀘세틴의 포집효율은 증가하는 것을 확인하였다. 따라서 인지질과 계면활성제 농도로 구성된(90 : 10) ELQ-3이 높은 가변형성과 최대의 포집효율을 갖는 결과를 보여주었다.

(5) Franz diffusion cell을 이용하여 퀘세틴 담지 탄성 리포솜의 피부 투과 능력을 평가한 결과, ELQ-3은 1,3-butylene glycol 용액과 일반 리포솜인 ELQ-1에 비하여 시간별 퀘세틴의 피부 투과량이 더 크게 나타났다. 1,3-Butylene glycol (quercetin in stock solution)의 경우 24시간까지 피부로 퀘세틴을 전달하지 못하고 tape(각질층), skin(표피+진피)에 존재하는 것으로 나타났다. 하지만, ELQ-1과 ELQ-3의 경우 모두 8시간까지는 시간 의존적으로 퀘세틴의 피부 투과량이 증가하였고, 24시간 후 퀘세틴의 누적 투과량(transdermal)은 1,3-butylene glycol 용액의 경우 0.0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 이었고, ELQ-1은 27.8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , ELQ-3은 56.4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 으로 초기 적하량 314.4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 에 대하여 각각 8.8 및 18.0%의 투과율을 나타냈다.

(6) 피부 투과 실험에서, 각질층에 존재하는 퀘세틴의 함량(tape)은 1,3-butylene glycol 용액의 경우는 4.6%였고, ELQ-1이 4.1%, ELQ-3의 경우 5.8%로 1,3-butylene glycol 용액이 각질층에 약간 더 존재하는 것으로 나타났다. 각질층을 제외한 피부(표피+진피)로 침투된 퀘세틴의 함량(skin)은 1,3-butylene glycol과 ELQ-1, ELQ-3에서 각각 60.5, 74.0, 89.7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 로 초기 적하량에 대한 퀘세틴의 침투율로 환산할 경우 각각 19.3, 23.5 및 28.5%로 탄성 리포솜 제형인 ELQ-3(90 : 10)의 경우 표피와 진피에 존재하는 퀘세틴의 양이 훨씬 많은 것으로 나타났다.

(7) 피부에 침투된 퀘세틴의 총 함량은 초기 적하량 314.4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 에 대하여 1,3-butylene glycol과 ELQ-1, ELQ-3에서 각각 75.1 및 114.8, 164.6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 으로 측정되었다. 피부의 각질층(tape), skin(각질층 제외한 표피+진피), 그리고 transdermal(피부를 통과한 receptor phase에 존재)를 합친 누적 투과량은 탄성 리포솜(ELQ-3) > 계면활성제가 없는 리포솜(ELQ-1) > 1,3-butylene glycol 용액 순으로 나타났다.

이상의 결과들은 Tego® care 450을 이용하고 퀘세틴을 함유한 탄성 리포솜은 유효성분의 안정화 및 유효성분의 피부 전달에 있어서 적합한 피부 흡수 전달시스템이 될 수 있음을 시사한다.

**감사의 글:** 본 연구는 보건복지부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호:A103017).

## 참 고 문 헌

1. E. J. An, C. K. Kang, J. W. Kim, and B. S. Jin, *KIC News*, **13**, 24 (2010).
2. G. M. El Maghraby, B. W. Barry, and A. C. Williams, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **34**, 203 (2008).
3. M. J. Choi and H. I. Maibach, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **27**, 211 (2005).
4. J. E. Kim, H. J. Lee, M. S. Lim, M. A. Park, and S. N. Park, *J. Soc. Cosmet. Scient.*, **38**, 15 (2012).
5. G. Cevc and G. Blume, *Biochim. Biophys. Acta*, **1104**, 226 (1992).
6. G. Cevc, D. Gebauer, J. Stieber, A. Schatzlein, and G. Blume, *Biochim. Biophys. Acta*, **1368**, 201 (1998).
7. M. A. Elsayed, Y. Abdallah, F. Naggar, and M. Khalafallah, *Int. J. Pharm.*, **332**, 1 (2007).
8. G. Ceve, A. Schatzlein, and H. Richardsen, *Biochim. Biophys. Acta*, **1546**, 21 (2002).
9. W. Johnson, *Int. J. Toxicol.*, **20**, 13 (2001).
10. R. G. Allen and M. Tresini, *Free Radic. Biol. Med.*, **28**, 463 (2000).
11. C. F. Skibola and M. T. Smith, *Free Radic. Biol. Med.*, **29**, 375 (2000).
12. C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga, *Trends Plant Sci.*, **2**, 152 (1997).
13. S. N. Park, S. W. Choi, and Y. C. Boo, *Kor. J. Ginseng Sci.*, **14**, 1991 (1990).
14. G. Cevc, A. Schatzlein, and G. Blume, *J. Control. Release*, **36**, 3 (1995).
15. G. Cevc, D. Gebauer, J. Stieber, A. Schatzlein, and G. Blume, *Biochim. Biophys. Acta*, **1368**, 201 (1998).
16. S. Jain, N. Jain, D. Bhadra, A. K. Tiwary, and N. K. Jain, *Curr. Drug Deliv.*, **2**, 223 (2005).
17. C. Hofer, R. Hartung, R. Gobel, P. Deering, A. Lehmer, and J. Breul, *World J. Surg.*, **24**, 1187 (2000).
18. J. Y. Shin, Y. K. Oh, and C. K. Kim, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **33**, 187 (2003).
19. S. Jain, N. Jain, D. Bhadra, A. K. Tiwary, and N. K. Jain, *Curr. Drug Deliv.*, **2**, 223 (2005).