

계면활성제 함유 인지질 나노입자의 초가변성 연구

신지영*** · 오유경**† · 강민정*** · 권경애*** · 김종국*†

*서울대학교 약학대학, **포천중문 의과대학교, ***(주) 한독약품
(2003년 6월 11일 접수 · 2003년 8월 20일 승인)

Deformability of Phospholipid Nanoparticles Containing Surfactants

Jee-Young Shin***, Yu-Kyoung Oh**†, Min-Jeong Kang***, Kyoung-Ae Kwon*** and Chong-Kook Kim*†

*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea

**College of Medicine, Pochon CHA University, Pochon, Kyeonggi-do 487-800, Korea

***Handok Pharmaceutical Co., LTD, Korea

(Received June 11, 2003 · Accepted August 20, 2003)

ABSTRACT—This study was aimed to formulate various phospholipid nanoparticles composed of different surfactants and to evaluate the deformability of the phospholipid vesicles as candidates of useful ultradeformable nanoparticles. *In vitro* deformability of the phospholipid nanoparticles was studied using an extruder under a certain pressure. The sizes of phospholipid nanoparticles, passed volumes, and concentrations of the phospholipids in suspensions before and after extrusion were measured. The deformability indexes were estimated by using passed volumes, sizes of phospholipid nanoparticles and concentrations of phospholipids. Conventional liposomes, placed under a certain pressure of an extruder, showed no passed volume indicating little deformability. Similar to conventional liposomes, phospholipid nanoparticles containing surfactants such as sodium taurocholate, Myrj 45, or Myrj 53 showed little deformability. In contrast, phospholipid nanoparticles composed of Tween 20, Triton X-100, or sodium deoxycholate showed higher deformability indexes than others. Taken together, the deformability of phospholipid nanoparticles could be significantly affected by the type of surfactants. Moreover, these results suggest that the deformability of phospholipid nanoparticles could be modulated by surfactants.

Key words—Ultradeformable nanoparticles, Deformability, Surfactants

약물의 경피 흡수 경로는 다른 투여 경로에 비해 많은 장점을 가지고 있다. 간초회통과 효과를 회피할 수 있고 지속적인 약물 투여가 가능하며 부작용이 적은 편이고 부작용 발생 시 바로 투여를 중단할 수도 있다. 또한 투여가 간편하여 환자의 순응도를 높일 수 있다. 그러나 피부가 자연적으로 지니고 있는 방어 특성은 대부분 약물의 피부 통과를 제한하여 경피 투여의 최대 걸림돌로 작용한다.

외부 물질이 피부의 방어벽을 통과하여 흡수되는 경로는 크게 모낭이나 한선과 같은 피부 부속 기관을 통하는 경부속기관 흡수와 각질층을 통하는 경피부 흡수 두 가지로 나누어 생각할 수 있다. 이 중 경피부 흡수 경로는 다시 세포 사이 지질층(extracellular lipids)을 통과하는 세포 간극 경로(intercellular route)와 각질 세포(corneocyte) 내를 통과하는 세포내 경로(transcellular route)로 나뉘어 진다. 대부분의 물질은 세포 간극 경로를 통해 피부를 통과하기 때문에 지질과 친화성이 큰 물질일수록 경피 흡수에 유리하다.¹⁾

그러나 실제 약물이 이와 같은 경로로 자연 상태의 피부를 통과하는 경우는 매우 드물기 때문에 피부의 방어벽을 극복하기 위해 각질층을 일시적으로 파괴 또는 교란시키거나 회피하는 다양한 물리화학적 방법들이 시도되어 왔다. 그 중 인지질 나노입자를 피부 표면에 적용하는 시도가 꾸준히 관심을 모으고 있다. 대표적인 인지질 나노입자인 리포솜(liposome)은 소포(vesicle) 구조를 가진 콜로이드 입자로 약제학적으로는 보통 인지질(phospholipid)과 콜레스테롤(cholesterol)을 기본으로 구성된다. 이러한 지질 분자는 수용액 상에서 한 층 또는 중심을 가지는 여러 층의 수화된 이중층(hydrated bilayer)을 형성하여 내부 수층이나 지질 이중층 내에 약물을 함유할 수 있다. 리포솜은 각질층이나 피부의 외층 구조에 축적되는 국소 효과(localizing effect)를 가지고 있는 것으로 보고되고 있으며 일반적으로 피부를 투과하지는 못하는 것으로 알려져 있다.¹⁾

새로운 형태의 인지질 나노입자인 초가변형 나노입자(ultradeformable nanoparticle)는 리포솜과 마찬가지로 지질 이중층으로 싸여 있는 내부 수층을 적어도 1개 이상 포함하도록 설계되어 있다. 초가변형 나노입자를 구성하는 인지질

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

Tel : 031)542-6671, E-mail : ohyk@cha.ac.kr or cckim@plaza.snu.ac.kr

은 리포솜과 동일하지만, 이중층에 견고성(rigidity)을 부여하는 콜레스테롤 대신 막의 유동성(fluidity)을 증가시키는 생체 적합성 막 유연화 물질(biocompatible membrane softner)이 첨가되는 점이 특이하다. 따라서 초가변형 나노입자는 형태나 구조면에서 리포솜과 비슷해 보이지만 초가변형 나노입자를 구성하는 지질 이중층은 리포솜에 비해 매우 가변적(deformable)이며 적응력이 향상된(adaptable) 특성을 가진다. 보고된 바에 따르면 초가변형 나노입자는 낮은 에너지가 요구되는 신속한 외형 변형을 통해 외부 스트레스에 반응할 수 있다고 한다. 그 결과 초가변형 나노입자는 스스로의 모양을 변형시키면서 피부 각질층을 통과할 수 있게 된다. 초가변형 나노입자는 일반 리포솜에 비해 약 10^5 배 정도 가변적이며 제조시 크기의 1/10 크기인 미세공(pore)도 통과할 수 있다고 한다. 따라서 200~300 nm 크기의 초가변형 나노입자는 각질층 통과가 가능하다.^{2,7)}

초가변형 나노입자가 자신의 모양을 변형시키면서 피부를 통과하는 과정에 필요한 에너지는 피부 조직에 자연적으로 형성되어 있는 수분 기울기(hydration gradient)에 의해 제공되는 것으로 알려져 있다. 인지질은 탈수 조건을 피하려는 경향이 있기 때문에, 완전히 수화되어 있는 초가변형 나노입자는 상대적으로 건조한 피부 표면으로부터 수분이 많이 함유된 피부 내부의 살아 있는 조직(표피 및 진피)으로 침투하게 된다. 따라서 초가변형 나노입자는 자연 상태, 즉 투여부위를 밀폐하지 않은 상태(non-occluded condition)에서 정상 피부를 자발적으로 투과하게 된다. 반면 일반 리포솜은 피부 표면이나 각질층의 윗부분에 머무르면서 탈수되어 피부의 지질과 융합(fusion)되는 것으로 생각되고 있다.^{1,3,5)}

현재까지 초가변형 나노입자는 일반 리포솜에 비하여 마취제나 소염제, 항암제, 호르몬, 사이토카인(cytokine)과 같은 약물의 경피 흡수를 더욱 촉진하는 것으로 밝혀졌다.^{2,6,8-10)} 초가변형 나노입자는 또한 일부 단백질의 경피 면역(transcutaneous immunization)에도 효과적인 것으로 알려졌다.¹¹⁻¹³⁾ *In vivo* 실험에서는 30분 이내에 경피 투여한 단백질이나 펩타이드의 50%가 피부를 통과하는 것이 관찰되었다.¹³⁾ 또한 투여부위를 밀폐하지 않은 상태에서 초가변형 나노입자와 일반 리포솜 모두 약물의 포화 수용액에 비해 최대 유량(maximum flux)과 피부 축적(skin deposition)을 증가시키는 것으로 확인되었다.^{8,9)}

그러나 리포솜은 그 동안 수많은 연구를 통해 다양한 조성비율의 나노입자들이 확립되어 온 것에 반해 초가변형 나노입자는 매우 한정된 포물레이션만이 사용되고 있다. 현재까지 초가변형 나노입자를 구성하는 인지질로는 phosphatidyl choline이 주로 사용되어 왔으며, 계면활성제로는 sodium

cholate가 가장 일반적이고 그 외에 Tween 80과 Span 80 등을 사용한 예가 있다.^{8,9)} 본 연구에서는 초가변형 나노입자도 리포솜과 마찬가지로 그 조성에 따라 나노입자 특성에 변화가 있을 것으로 가정하고 다양한 초가변형 나노입자를 제조하여 지질막 특성의 변화를 살펴 보았다. 초가변형 나노입자의 가장 큰 특징인 막의 유연성은 인지질의 종류와 계면활성제의 종류 모두의 영향을 받을 것으로 생각되나 특히 막에 유동성을 부여하는 인자인 계면활성제의 역할이 클 것으로 기대되어 인지질은 이전 연구에서와 같이 phosphatidyl choline으로 고정하고 계면활성제의 종류를 변화시켜 막의 가변성(deformability)을 측정해 보았다.

실험 방법

시약 및 기기

인지질 나노입자 제조에 사용된 egg yolk phosphatidyl choline과 콜레스테롤은 Avanti (Alabaster, AL, USA)로부터 구입하였으며, 계면활성제 중 sodium cholate, sodium deoxycholate, sodium taurocholate, Tween 80, Myrj 45, Myrj 53, Brij 35 및 Brij 58은 Sigma (St. Louis, MO, USA)로부터, Tween 20 및 Triton X-100은 USB (Cleveland, OH, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 인지질 통과를 측정에 사용된 phosphorous 표준용액, 암모니움 폴리브데이트(ammonium molybdate) 및 아스코르빈 산(ascorbic acid)은 Sigma (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, 30% H₂O₂ 용액은 Fluka (Switzerland)로부터, H₂SO₄는 Merck (Darmstadt, Germany)로부터 구입하였다. 완충액 제조에 사용된 NaCl 및 EDTA는 Sigma (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, TES는 USB (Cleveland, OH, USA)로부터 구입하였다. 실험에 사용된 완충액 및 시약은 모두 증류수를 사용하여 제조하였으며, 증류수는 Milli-Q (Millipore Co., USA)를 통과시켜 제조하였다. 인지질 나노입자 제조 및 통과용적을 측정은 Lipex Thermobarrel Extruder (Northern Lipids Inc., Canada) 및 폴리카보네이트 멤브레인(Nuclepore®, Whatman, USA)을 사용하여 수행하였으며, 인지질 나노입자의 평균입자경은 Submicron Particle Sizer (Nicomp 370, Particle Sizing Systems Inc., CA, USA)를 사용하여 측정하였다.

일반 인지질 리포솜의 제조

일반 리포솜은 보편적인 방법에 따라 제조하였다. Egg yolk phosphatidyl choline(PC)과 콜레스테롤(Chol)을 10:5 mol/mol 비율로 클로로포름에 녹인 후, 클로로포름을 증발 제거하여 얇은 지질 피막(lipid film)을 형성하였다. 생성된

지질 피막에 NTE 완충액(140 mM NaCl, 10 mM TES, 0.1 mM EDTA, pH 7.0)을 넣고 강하게 vortexing하여 지질 농도가 1.5%인 나노 입자의 현탁액을 제조하였다. 최종적으로 0.2 μ m 멤브레인 필터를 통과시켜 입자 크기를 200 nm로 균일화하였다.

계면활성제를 함유한 인지질 나노입자의 제조

계면활성제를 함유한 인지질 나노입자는 이전에 기술되었던 방법을 약간 변형하여 제조하였다.¹²⁾ 계면활성제를 함유한 인지질 나노입자는 인지질과 계면활성제(6:1 w/w)를 혼합하면 용이하게 형성되며, 본 실험에서는 PC를 칭량한 뒤 계면활성제를 포함하는 NTE 완충액을 가하고 충분히 vortexing하여 제조하였다. 최종 지질 농도는 1.5%로 하였으며, 리포솜과 마찬가지로 0.2 μ m 멤브레인 필터를 이용하여 입자 크기를 200 nm로 균일화하였다.

인지질 나노입자의 크기 측정

인지질 나노입자의 평균 입자경은 Submicron Particle Sizer (Nicomp 370, Particle Sizing Systems Inc., CA, USA)를 사용하여 dynamic light scattering 방법으로 측정하였다.

통과 용적률의 측정

제조한 인지질 나노입자의 가변성을 평가하기 위해 extruder (Lipex Thermobarrel Extruder, Northern Lipids Inc., Canada)를 이용하여 인지질 나노입자가 인공 투과 장벽(artificial permeation barrier)을 통과하는 정도를 측정하였다. 200 nm 크기의 인지질 나노입자 현탁액(지질 농도 1.5%)에 1.2 MPa의 압력을 10분간 가했을 때 3점의 0.05 μ m 폴리카보네이트 멤브레인(Nuclepore®, Whatman, USA)을 통과하여 나온 유액의 부피를 측정하고 통과 유액의 부피를 처음 extruder에 가한 부피에 대한 비율로 표시한 것을 “통과 용적률(passed volume ratio)”로 정의하였다.

인지질 통과율의 측정

Phosphate assay 방법¹⁴⁾으로 인공 투과 장벽 통과 후 인지질 나노입자 현탁액 중의 인지질 농도 변화를 측정하였다. 인지질 나노입자를 170°C에서 10 N H₂SO₄로 분해하고 30% H₂O₂를 처리한 후 170°C로 가열하여 H₂O₂를 제거하였다. 이와 같은 방법으로 인지질에서 유리된 인산기(phosphate)는 0.2% 암모늄염 몰리브데이트와 15% 아스콜빈 산을 첨가하고 100°C로 가열하여 발색시킨 후 830 nm에서 흡광도를 측정하였다. 인지질 통과율은 멤브레인을 통과한 유액의 인지질 농도 또는 총량을 멤브레인 통과 전 원액의 인지

질 농도 또는 총량으로 나누어 “인지질 농도비(relative ratio of phospholipid concentration)” 또는 “인지질 총량비(relative ratio of total phospholipids)”로 각각 표시하였다.

가변 지수의 산정

통과 용적률(passed volume ratio)에 입자 크기를 고려한 인자인 (r_v/r_p)²과 멤브레인을 통과한 인지질 나노입자의 비율을 고려한 인자인 인지질 농도비를 곱하여 가변 지수(deformability index)로 정의하였다. 여기에서 r_v 는 제조한 인지질 나노입자의 크기이며 r_p 는 인지질 나노입자가 통과한 세공의 크기(50 nm)이다.

결과 및 고찰

리포솜 및 계면활성제를 함유한 인지질 나노입자의 제조

계면활성제의 종류에 따라 인지질 나노입자의 막특성이 변화할 것으로 가정하고 특성이 다른 계면활성제 10가지를 선정하여 다양한 인지질 나노입자를 제조하였다. 음이온성 계면활성제 중에서는 담즙산염의 일종인 sodium cholate (CLA), sodium deoxycholate(DCLA), sodium taurocholate (TCLA)를 사용하였고, 비이온성 계면활성제로는 polyoxyethylene ester 및 ether 유도체를 사용하였다. Polyoxyethylene ester 유도체로는 Tween 20 (polyoxyethylenesorbitan monolaurate; Tw 20), Tween 80 (polyoxyethylenesorbitan monooleate; Tw 80), Myrj 45 (polyoxyethylene-8-stearate; Mj 45) 및 Myrj 53 (polyoxyethylene-50-stearate; Mj 53)을 사용하였고, ether 유도체로는 Brij 35 (Polyoxyethylene-23-lauryl ether; Bj 35), Brij 58 (Polyoxyethylene-20-cetyl ether; Bj 58), Triton X-100 (t-octylphenoxypolyethoxyethanol; TX-100)을 사용하였다. 견고한 막을 지닌 일반 리포솜은 콜레스테롤(Chol)을 사용하여 제조하였으며 계면활성제를 함유한 인지질 나노입자의 가변성을 입증하기 위한 대조군으로 이용하였다.

이전의 연구에서 인지질과 계면활성제의 비율은 phosphatidyl choline과 sodium cholate를 6:1 w/w로 사용한 경우가 주로 보고되었다. 또한 Tw 80과 Span 80을 사용한 연구에서 인지질 나노입자의 막 유동성이 최대가 되는 인지질과 계면활성제의 비율도 6:1 w/w와 유사한 것으로 관찰되었으며 본 실험에서 PC와 각 계면활성제의 비율은 모두 6:1 w/w로 통일하였다.^{8,9,12,13)}

리포솜과 계면활성제를 함유한 인지질 나노입자는 제조 시부터 지질막 특성에서 차이를 보였다. 입자의 크기 조정을 위한 멤브레인 여과 과정에서 리포솜은 계면활성제를 함유

한 인지질 나노입자에 비해 훨씬 높은 압력이 요구되어 계면활성제를 함유한 인지질 나노입자의 막이 리포솜보다 유연한 것으로 사료되었다.

인지질 나노입자의 크기

제조한 인지질 나노입자의 크기는 모두 200 nm에서 크게 벗어나지 않는 것으로 확인되었으며 계면활성제의 종류에 따라 약간씩 달라지는 경향을 보였다. CLA, DCLA, TCLA, Bj 35, Bj 58, TX-100을 포함하는 인지질 나노입자의 크기는 160~180 nm로 다른 인지질 나노입자에 비해 비교적 작은 경향을 보였으며, Tw 20과 Tw 80을 포함하는 인지질 나노입자의 크기는 190 nm 정도였다. Mj 45, Mj 53을 포함하는 인지질 나노입자의 크기는 200 nm 정도로 다른 인지질 나노입자보다 약간 큰 경향을 보였다. 리포솜의 입자 크기는 190 nm 정도로 Tween을 포함하는 인지질 나노입자와 유사하였다(Table I).

통과 용적률

계면활성제의 종류가 인지질 나노입자의 가변성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 인지질 나노입자가 일정 압력 하에서 보다 작은 크기의 세공을 통과하는 정도를 측정하였다. 인공 투과 장벽으로는 인지질 나노입자의 1/4 정도 크기의 세공을 가진 0.05 μm 폴리카보네이트 멤브레인을 3겹으로 사용하였다. 멤브레인 내에서 세공의 위치가 일정하지 않기 때문에 겹쳐진 멤브레인은 피부의 각질층 구조, 특히 인지질 나노입자의 흡수 경로로 유력한 세포 간극 경로를 어느 정도 모방할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 제조한 인지질 나노입자의 평균 크기는 160~210 nm 정도이고 표준편차는 30~70 nm 범위이기 때문에 평균적으로는 멤브레인 세공의

Table I—Mean Particle Sizes of Various Phospholipid Nanoparticles (n=4)

Type of lipid vesicles	Mean diameter (nm)	Standard deviation (nm)
PC+CLA	175.0±10.4	55.8±3.9
PC+DCLA	165.1±5.6	45.5±12.8
PC+TCLA	181.4±4.9	67.7±6.5
PC+Tw 20	190.2±9.1	42.6±10.7
PC+Tw 80	189.9±9.0	35.1±17.7
PC+Mj 45	204.6±20.3	68.8±21.1
PC+Mj 53	196.8±6.2	42.0±0.7
PC+Bj 35	179.4±7.6	30.8±14.2
PC+Bj 58	177.4±2.9	37.0±6.6
PC+TX-100	169.6±5.8	50.3±6.8
PC+Chol	189.2±5.7	38.9±21.4

4배, 최소 2배 이상의 크기를 가지는 입자가 멤브레인을 통과할 것으로 사료된다.

음이온성 계면활성제인 CLA, DCLA, TCLA는 모두 담즙산염의 일종으로 생체 적합성이 높은 특징을 가지고 있다. 이들 담즙산염 중에서는 PC+DCLA가 0.60으로 비교적 높

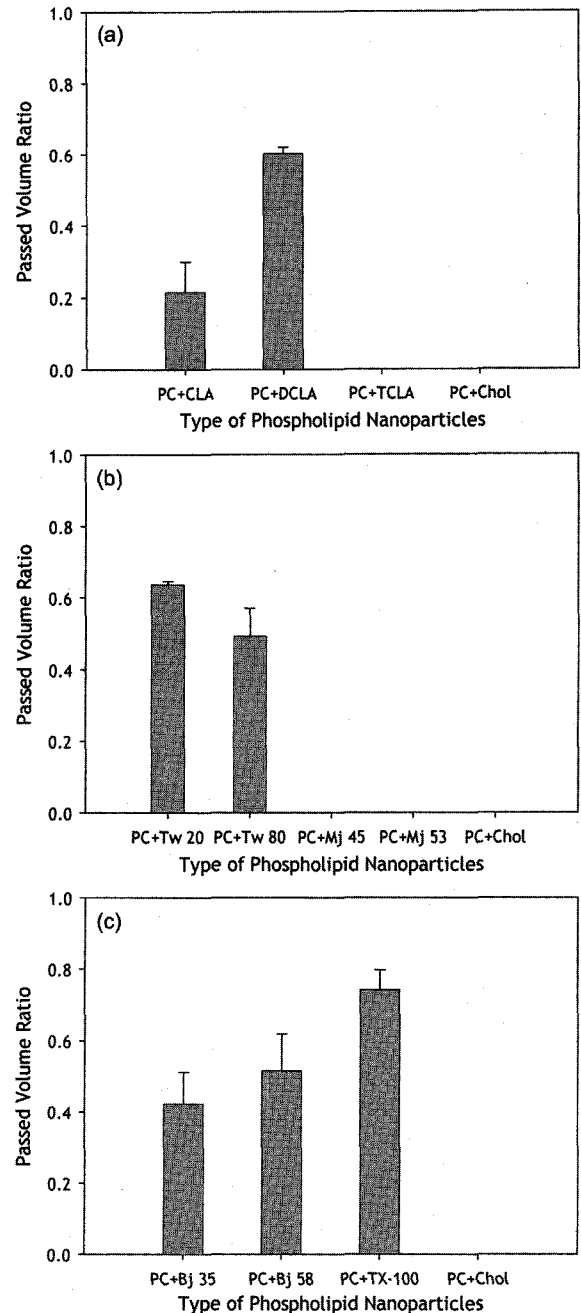


Figure 1—Passed volume ratio of various phospholipid nanoparticles (n=4).
 (a) Phospholipid nanoparticles containing bile salts.
 (b) Phospholipid nanoparticles containing polyoxyethylene esters.
 (c) Phospholipid nanoparticles containing polyoxyethylene ethers.

은 통과 용적률을 보였으며 PC+TCLA는 리포솜과 마찬가지로 통과 유액이 전혀 없었다. 초기변형 나노입자에 많이 이용되어 왔던 PC+CLA의 통과 용적률은 0.22로 낮은 수준이었다(Figure 1a). Polyoxyethylene ester 계열 비이온성 계면활성제 중 polyoxyethylenesorbitan ester에 속하는 Tween 류 계면활성제를 함유한 PC+Tw 20과 PC+Tw 80은 각각 0.64와 0.49로 상당한 통과 용적률을 보여 가변성이 높은 나노입자의 형성을 기대할 수 있었다. 반면 polyoxyethylene stearate류에 속하는 Myrj 계통 계면활성제 Mj 45와 Mj 53을 함유한 인지질 나노입자는 통과 유액이 전혀 없었다(Figure 1b). Polyoxyethylene ether 유도체 3가지 중에서는 PC+TX-100이 0.74의 높은 통과 용적률을 보였으며, Brij를 함유한 PC+Bj 35와 PC+Bj 58은 각각 0.42와 0.52의 통과 용적률을 나타내었다(Figure 1c). 사용한 계면활성제 중에서 통과 용적률이 높은 인지질 나노입자를 형성하는 것은 TX-100 > Tw 20 > DCLA 순이었고, 통과 유액이 없는 것을 제외하면 CLA가 가장 낮은 수치를 보였다. 또한 TCLA, Mj 45, Mj 53은 리포솜과 마찬가지로 통과 유액이 전혀 없어 상대적으로 유연하지 못한 인지질막을 형성하는 것으로 나타났다. 제조한 인지질 나노입자는 통과 용적률 뿐 아니라 멤브레인을 통해 유액이 나오기 시작하는 시간과 유액이 지속되는 시간에서도 차이를 보였다. 그러나 모든 인지질 나노입자에서 시간이 지남에 따라 유액이 나오는 속도와 양이 점점 감소하였으며, 이는 멤브레인의 세공이 인지질 나노입자에 의해 조금씩 막히기 때문인 것으로 생각된다.

인지질 통과율

인지질 나노입자의 멤브레인 통과 여부를 확인하기 위한 평가 인자로서 인지질 통과율을 추가적으로 사용하였다. 인지질 통과율은 멤브레인 통과 전의 인지질 나노입자 현탁액과 멤브레인을 통과해 나온 유액 중의 인지질을 정량하여 평가하였다.

담즙산염의 경우 PC+DCLA는 멤브레인 통과 후 인지질 농도비가 통과 전의 0.97로 측정되어 인지질 나노입자가 원액과 거의 동일한 농도로 통과하였음을 알 수 있었다. 반면 PC+CLA는 멤브레인 통과 후의 농도비가 0.62로 낮은 수준을 보여 상당한 비율의 인지질 나노입자가 멤브레인을 통과하지 못하고 완충액만 빠져 나온 것을 추측할 수 있었다(Figure 2a). Polyoxyethylene ester 계열 비이온성 계면활성제 중 통과 유액이 있었던 Tw 20과 Tw 80 함유 인지질 나노입자는 각각 0.92와 0.85의 인지질 농도비를 보여 대부분의 인지질 나노입자가 원액의 농도와 유사하게 멤브레인을 통과해 나온 것을 확인할 수 있었다(Figure 2b). 또한

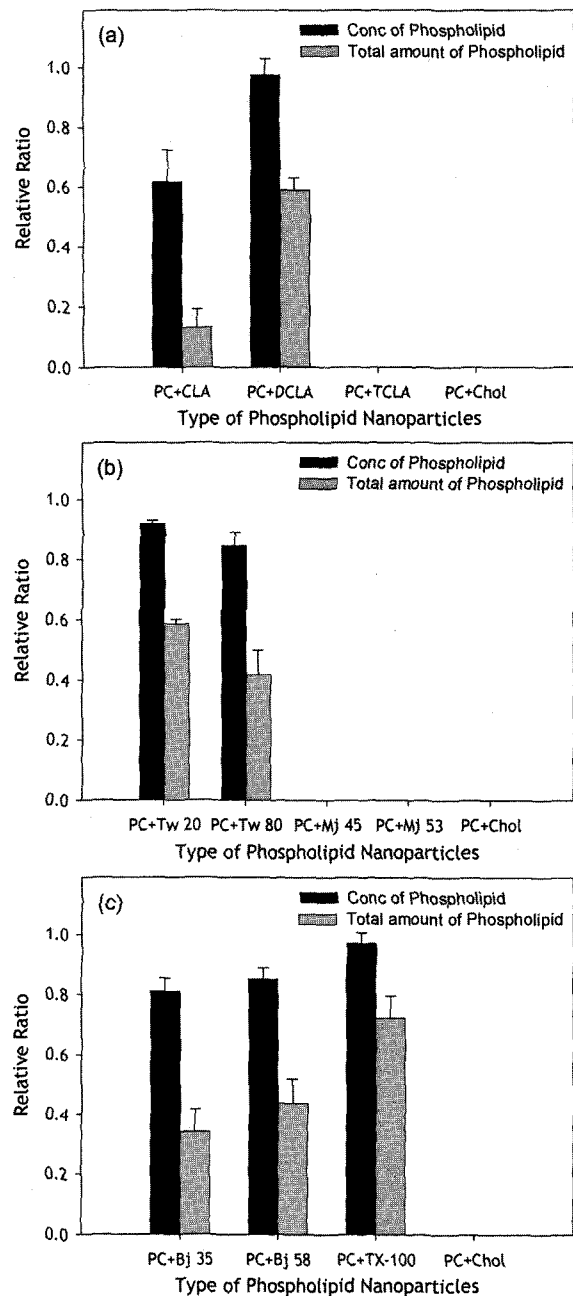


Figure 2—Passed phospholipid ratio of various phospholipid nanoparticles (n=4).

- (a) Phospholipid nanoparticles containing bile salts.
 (b) Phospholipid nanoparticles containing polyoxyethylene esters.
 (c) Phospholipid nanoparticles containing polyoxyethylene ethers.

polyoxyethylene ether 계열 중에서는 PC+TX-100이 0.97의 높은 인지질 농도비를 나타냈으며, PC+Bj 35와 PC+Bj 58도 각각 0.81과 0.85로 많은 비율의 인지질 나노입자가 통과해 나온 것을 볼 수 있었다(Figure 2c). CLA를 제외하고는 인지질 농도비가 모두 0.8 이상이였으며, 인지질 나노입자가 실제 멤브레인을 통과해 나왔음을 확인할 수 있었다.

또한 흥미로운 점은 통과 용적률이 가장 높았던 TX-100, Tw 20 및 DCLA 함유 인지질 나노입자가 다른 인지질 나노입자에 비해 인지질 통과율도 높다는 것이다. 이는 이 3가지 계면활성제가 초가변형 나노입자를 형성할 가능성이 높다는 것을 암시해 준다. 인지질 총량의 경우, 계면활성제간의 인지질 농도비 차이가 크지 않았기 때문에 주로 통과 유액의 부피에 의해 좌우되는 경향을 보였다.

가변 지수

인지질 나노입자가 자신보다 작은 세공을 통과하기 위한 활성화 에너지는 세공 크기(r_p)의 제곱에 비례하며 입자 크기(r_v)의 제곱에 반비례한다.¹³⁾ 따라서 입자 크기가 클수록 일정 크기의 세공을 통과하는 데 많은 에너지가 필요하게 되므로 동일한 에너지(외부 압력)가 주어진 경우 통과 비율이 감소하게 된다. 본 실험에서 제조한 인지질 나노입자는 계면활성제의 종류에 따라 입자 크기가 약간씩 다른 경향을 보였기 때문에 통과 용적률에 입자 크기를 고려한 인자로 활성화 에너지 비례인자의 역수인 $(r_v/r_p)^2$ 을 곱하여 보정하였다. 또한 인지질 나노입자가 멤브레인을 통과해 나온 비율이 가변성 평가의 중요한 인자이므로 인지질 농도비를 곱하여 최종적으로 가변 지수로 하였다.

가변 지수와 통과 용적률 경향은 아주 큰 차이를 보이지는 않았지만 계면활성제 간의 순위에서 약간의 변동이 있었다. 가변 지수는 PC+Tw 20이 최고 수치를 보여 앞으로 유용한 초가변형 나노입자로서의 활용이 기대되었다. 통과 용적률이 가장 높았던 PC+TX-100은 입자 크기가 작아 Tw 20에 이어 두번째로 높은 가변지수를 보였으며 그 뒤를 이어

PC+DCLA, PC+Tw 80 등이 높은 가변 지수를 보였다. CLA는 통과 유액이 없었던 3가지 계면활성제를 제외하면 통과 용적률과 가변지수에서 모두 가장 낮은 수치를 보였다 (Figure 3).

이상의 결과에서 볼 수 있듯이 10가지의 계면활성제를 함유한 인지질 나노입자 중 PC+TCLA, PC+Mj 45, PC+Mj 53의 3가지는 리포솜과 마찬가지로 전혀 통과 유액이 없었으며 나머지 인지질 나노입자도 계면활성제의 종류에 따라 가변 지수가 변화하였다. 즉, 본 실험에서 계면활성제의 종류가 인지질 나노입자의 가변성에 영향을 주며 모든 계면활성제가 초가변형 나노입자를 형성할 수 있는 것은 아니라는 사실을 *in vitro* 평가를 통해 확인할 수 있었다. 특히 그동안 초가변형 나노입자 연구에서 가장 많이 사용되었던 PC+CLA가 통과 유액을 보이는 인지질 나노입자 중에서는 가장 낮은 가변성을 가지는 사실로부터 더욱 향상된 특성을 가지는 다양한 초가변형 나노입자의 제조가 가능할 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 정보통신부 정보통신선도기반기술개발사업(과제번호 01-PJ11-PG9-01NT00-0020)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

문 헌

- 1) B.W. Barry, Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **14**, 101-114 (2001).
- 2) M.E. Planas, P. Gonzale, L. Rodriquez, S. Sanchez and G. Cevc, Noninvasive percutaneous induction of topical analgesia by a new type of drug carrier and prolongation of local pain insensitivity by anesthetic liposomes, *Anesth. Analg.*, **75**, 615-621 (1992).
- 3) 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).
- 4) G. Cevc, A. Schatzlein and G. Blume, Transdermal drug carriers: basic properties, optimisation and transfer efficiency in the case of epicutaneously applied peptides, *J. Control. Rel.*, **36**, 3-16 (1995).
- 5) A. Paul, G. Cevc and B.K. Bachhawat, Transdermal immunization with large proteins by means of ultradeformable drug carriers, *Eur. J. Immunol.*, **25**, 3521-3524 (1995).
- 6) G. Cevc and G. Blume, New, highly efficient formulation of diclofenac for the topical, transdermal administration in

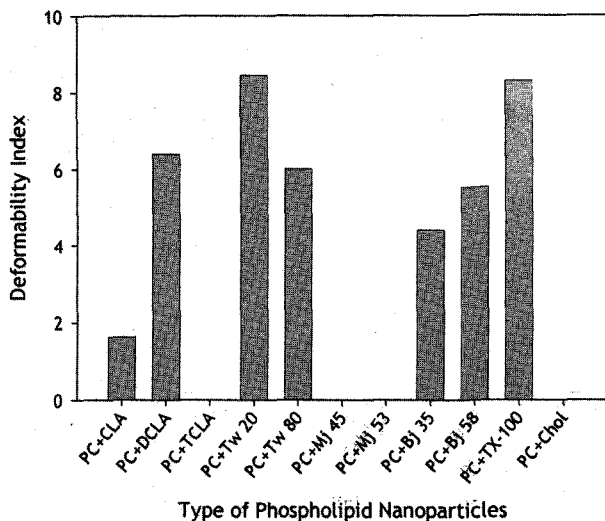


Figure 3-Deformability index of various phospholipid nanoparticles.

- ultra-deformable drug carriers, Transfersomes, *Biochim. Biophys. Acta*, **1514**, 191-205 (2001).
- 7) G. Cevc, A. Schatzlein and H. Richardsen, Ultra-deformable lipid vesicles can penetrate the skin and other semi-permeable barriers unfragmented. Evidence from double label CLSM experiments and direct size measurements, *Biochim. Biophys. Acta*, **1546**, 21-30 (2002).
 - 8) G.M. El Maghraby, A.C. Williams and B.W. Barry, Oestradiol skin delivery from ultra-deformable liposomes: refinement of surfactant concentration, *Int. J. Pharm.*, **196**, 63-74 (2000).
 - 9) G.M. El Maghraby, A.C. Williams and B.W. Barry, Skin delivery of estradiol from lipid vesicles: importance of liposome structure, *Int. J. Pharm.*, **204**, 159-169 (2000).
 - 10) E.A. Essa, M.C. Bonner and B.W. Barry, Iontophoretic estradiol skin delivery and tritium exchange in ultra-deformable liposomes, *Int. J. Pharm.*, **240**, 55-66 (2002).
 - 11) A. Paul, G. Cevc and B.K. Bachhawat, Transdermal immunisation with an integral membrane components, gap junction protein, by means of ultra-deformable drug carriers, transfersomes, *Vaccine*, **16**, 188-195 (1998).
 - 12) C. Hofer, R. Hartung, R. Gobel, P. Deering, A. Lehmer and J. Breul, New ultra-deformable drug carriers for potential transdermal application of interleukin-2 and interferon-alpha: theoretic and practical aspects, *World J. Surg.*, **24**, 1187-1189 (2000).
 - 13) G. Cevc, D. Gebauer, J. Stieber, A. Schatzlein and G. Blume, Ultraflexible vesicles, Transfersomes, have an extremely low pore penetration resistance and transport therapeutic amounts of insulin across the intact mammalian skin, *Biochim. Biophys. Acta*, **1368**, 201-215 (1998).
 - 14) V. P. Torchilin and V. Weissig, *Liposomes*, Oxford University Press, New York, U.S.A., pp. 111-112 (2003).