

리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 특성 및 경피 전달

임나리 · 김해수 · 임지원 · 김경진 · 노근영 · 박수남[†]

서울과학기술대학교 정밀화학과, 화장품종합기술연구소
(2015년 6월 23일 접수, 2015년 7월 16일 심사, 2015년 9월 6일 채택)

Characterization and Transdermal Delivery of Ethosomes Loaded with Liquiritigenin and Liquiritin

Na Ri Im, Hae Soo Kim, Ji Won Lim, Kyeong Jin Kim, Geun Young Noh, and Soo Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, Cosmetic R&D Center, Seoul National University of Science and Technology, 232 Gongneung-ro, Nowon-gu, Seoul 01811, Korea

(Received June 23, 2015; Revised July 16, 2015; Accepted September 6, 2015)

초 록

배당체 리퀴리틴 및 그 아글리콘인 리퀴리티게닌은 항산화 및 항노화 활성이 뛰어난 한국산 감초 성분이다. 본 연구에서는 리퀴리티게닌과 리퀴리틴의 피부 전달시스템으로 에토솜을 제조하고 입자크기, 포집 효율 및 피부 투과능을 평가하였다. 리퀴리틴계닌의 경우 2 mM 농도까지 안정한 에토솜이 형성되었고, 리퀴리틴은 0.75 mM 농도까지 안정하게 형성되었다. 0.75 mM 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 함유한 에토솜의 입자크기는 각각 143.85, 158.90 nm이었으며, 포집 효율은 각각 47.51, 54.61%이었고 약물의 농도에 의존적으로 포집 효율이 증가하는 경향을 나타내었다. 피부투과 실험을 수행한 결과, 리퀴리티게닌과 리퀴리틴 모두 에토솜이 일반 리포솜이나 에탄올 용액보다 더 우수한 피부 투과능을 보여주었다. 이는 0.50 mM 리퀴리티게닌 및 리퀴리틴을 담지한 에토솜이 피부전달에 효과적이며, 항노화 및 항산화 화장품 제형으로서 이용 가능성이 있음을 시사한다.

Abstract

Liquiritin and its aglycone, liquiritigenin are flavonoid found in licorice that show anti-oxidant and anti-aging properties. In this study, ethosomes loaded with hydrophobic liquiritigenin or liquiritin were prepared as a transdermal delivery system. The particle size, entrapment efficiency, and skin permeability of ethosomes were evaluated. Ethosome containing liquiritigenin was stable up to 2 mM and ethosome containing liquiritin was stable up to 0.75 mM concentration. The particle size of ethosomes containing 0.75 mM liquiritigenin and liquiritin was 143.85 and 158.90 nm, respectively and the entrapment efficiency was 47.51 and 54.61%, respectively. The entrapment efficiency was improved with increasing concentrations of drugs. Ethosomes loaded with liquiritigenin or liquiritin were superior in skin permeation ability compared to that of 20% ethanol solution and conventional liposomes. These results suggest that ethosomes containing 0.50 mM liquiritigenin or liquiritin are effective for the skin permeation and may be used as an antiaging and antioxidant ingredient in cosmetic formulation.

Keywords: liquiritigenin, liquiritin, ethosome, skin permeation studies, cosmetics

1. 서 론

감초(licorice)는 콩과 식물에 속하는 다년생 초본으로 한국은 물론 중국, 일본에서 한약재로서 많이 이용되고 있는 약용식물이다[1]. 감초는 항염, 항균, 항산화 활성과 같은 다양한 약리학적 활성을 나타내는 작용을 한다[2-4]. 감초의 주성분으로는 glycyrrhizin이 알려져 있고, liquiritin 및 isoliquiritin 등의 플라보노이드 배당체, 그리고 아이소

플라보노이드인 licoricidin 등이 보고되고 있다. 특히 감초의 성분 중 플라보노이드 계열인 리퀴리티게닌과 이것의 배당체인 리퀴리틴은 reactive oxygen species (ROS) 생성 및 지질과산화물을 저해한다고 이전 연구에서 보고한 바 있다[1]. 하지만 우수한 활성에도 불구하고 열과 빛에 불안정하며, 용해도가 매우 낮기 때문에 피부에 전달되어 효능을 얻기에 어려움이 있다[5].

피부는 표피, 진피, 피하조직으로 구성되어 있으며 그중 표피는 기저층, 유극층, 과립층 및 각질층으로 이루어져 있다. 각질층은 피부의 최외각 층으로 각질세포들이 층을 이루고 있으며 그 사이는 지질이 풍부한 세포 외 매트릭스로 구성되어 있다. 이러한 각질층의 구조적 특성은 외부의 자극으로부터 피부를 보호하고, 피부 내의 수분을 유지해 주는 피부 장벽으로서의 기능을 한다. 하지만 이러한 기능은 약물, 유효성분의 투과에서는 다소 불리하게 작용한다[6-8]. 따라서 이

[†] Corresponding Author: Seoul National University of Science and Technology, Department of Fine Chemistry, Cosmetic R&D Center, 232 Gongneung-ro, Nowon-gu, Seoul 01811, Korea
Tel: +82-2-970-6451 e-mail: snpark@seoultech.ac.kr

러한 피부장벽을 극복하고 활성물질의 경피 투과 효율을 증진시키기 위한 방안으로 경피전달시스템 (transdermal delivery systems, TDS)이 개발되고 있는데, 그중 대표적인 것이 리포솜이다.

리포솜은 피부 생체막과 유사한 지질 이중층 구조를 인위적으로 만든 후 활성 성분을 포집시켜 피부흡수를 증진시키는 전달체이다 [9-11]. 리포솜은 생체 친화성이 높으며 수용성 또는 지용성의 활성 성분의 포집이 모두 가능하다. 이에 반해 리포솜은 낮은 포집 효율, 제형 내에서의 불안정성, 유용 성분의 물에 대한 낮은 용해도, 지질의 산화 및 가수분해 가능성 등의 여러 단점을 가지고 있다. 이러한 문제점을 개선하기 위해 에토솜, 탄성 리포솜, 코팅 리포솜, 양이온 리포솜 등 새로운 베저클 개발에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다 [12,13].

에토솜은 인지질을 에탄올에 녹여 물에 분산시켜 만든 지질 구조체이다. 베저클에 포함된 에탄올은 피부투과 증진제로 지질의 극성 머리 부분과 작용하여 각질층 지질의 상전이 온도 및 계면장력을 감소 시킴으로써 지질 막의 유동성 및 가변형성을 증가시키고 피부 투과 시 각질 세포간 지질을 교란시켜 각질층의 투과를 효과적으로 높여준다. 이와 같이 에토솜은 기존 리포솜에 비해 막의 가변형성이 높아 활성 성분의 피부 전달에 효과적이고 피부 내 깊숙한 곳까지 전달시키는 경피 투과 효과가 뛰어난 지질 소포체이다 [9,10].

따라서 본 연구에서는 항산화 및 피부 세포 보호활성이 있는 감초 플라보노이드로, 난용성 물질인 리퀴리티게닌과 리퀴리틴의 피부 흡수 증진을 위해 약물 전달 시스템으로써 에토솜을 제조하였다. 또한 에토솜의 입자크기, 제형의 안정성, 포집 효율 및 경피 흡수능을 측정하여 비교하였다. 이러한 연구를 통하여 천연 항산화제인 플라보노이드를 담지한 에토솜 제형이 피부 전달에 어떠한 효과를 나타내는지 확인함으로써 항노화 및 항산화 화장품 제형으로서의 이용 가능성을 알아보고자 하였다.

2. 재료 및 실험방법

2.1. 기기 및 시약

실험에 사용된 인지질인 L- α -phosphatidylcholine from egg yolk (egg PC, ~60%)와 리퀴리틴, 리퀴리티게닌은 Sigma (USA)사의 제품을 사용하였고, 에탄올, 클로로포름 등의 용매는 특급시약을 사용하였다. 에토솜 제조 시에 사용된 기기로는 회전 증발기(BUCHI, Switzerland)와 초음파 파쇄기(BRANSON, USA)를 사용하였고, 에토솜의 입자 크기를 확인하기 위해 ELS-Z (OTSUKA, Japan)를 사용하였다. 피부 투과 실험에 사용한 Franz diffusion cell은 Permegear (USA)사의 9 mm Franz diffusion cell (receptor volume 5 mL)과 V6A stirrer 모델을 사용하였다. 에토솜의 포집 효율과 피부 투과 양을 측정하기 위해 사용된 HPLC (high performance liquid chromatography)는 Shimadzu (Japan)사의 제품을 사용하였다.

2.2. 에토솜 제조

에토솜의 제조는 얇은 막 수화 방법을 사용하였다 [14-16]. Egg PC (2%, w/v)와 리퀴리티게닌, 리퀴리틴(0.25~2 mM)을 각각 50 mL 둥근 바닥 플라스크에 넣고 클로로포름과 메탄올(7 : 3) 용액 10 mL를 넣어 녹였다. 그 후 회전 증발기(rotary evaporator)를 이용해서 유기 용매를 증발시킨다. 플라스크 벽면의 얇은 막에 20% 에탄올 용액을 넣고 지질 전이 온도 이상에서 500 rpm으로 교반한 뒤 수화시켰다. 이렇게 얻어진 에토솜이 균일한 크기의 베저클이 되도록 해주기 위해

서 glass bead를 넣고 초음파 파쇄기를 15 min간 가해주었다.

2.3. 에토솜 제형의 입자 크기 측정

용액 중에 분산된 입자는 크기에 따라 브라운 운동을 한다. 이때 광을 조사하면 큰 입자는 느리게 작은 입자는 빠른 움직임을 나타낸다. 이러한 움직임을 광산란법으로 해석함으로써 Einstein-stokes식을 이용하여 입자의 크기를 알 수 있다. 용매 중에 있는 리포솜 제형의 크기는 빛의 산란강도를 이용하여 입자크기를 분석하는 입도분석기 Otsuka ELS-Z를 이용하여 측정하였다. He-Ne laser를 이용하였고, 입자크기는 누적분석법을 이용하였다. 또한 입경분포 해석방법은 Contin을 이용하여 입경분포를 구하였다.

2.4. 에토솜 제형의 포집 효율 측정

완성된 에토솜 현탁액에서 1 mL를 취해 1.2 μ m syringe filter (Minisart CA 26 mm)를 이용하여 포집되지 않은 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 제거하였다. 그 후 과량의 에탄올을 이용하여 에토솜의 막을 파괴시킨다. 에탄올을 회전 증발기를 이용하여 증발시킨 후 다시 1 mL의 에탄올을 넣어서 녹인다. 그리고 에토솜 현탁액 속 에탄올에 녹아있는 약물의 양을 보정해주기 위해서 동량의 리퀴리티게닌과 리퀴리틴 각각을 20% 에탄올에 녹인 후에 위와 동일한 방법으로 처리해 주었다. 이렇게 준비된 시료를 HPLC를 이용해 리퀴리티게닌, 리퀴리틴 각각의 최대 흡수파장(λ_{max})인 311 nm에서 측정하였다. HPLC를 이용해 나온 값을 다음에 나타난 식에 대입하여 에토솜의 포집 효율을 계산하였다.

$$\text{Entrapment efficiency (\%)} = \frac{(C_P - C_E)}{C_0} \times 100$$

C_P : 1.2 μ m syringe filter를 통과한 약물의 농도


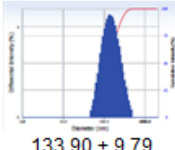

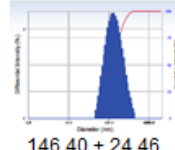
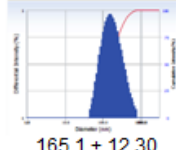
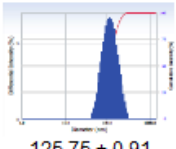


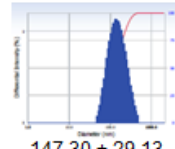
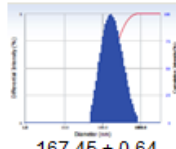


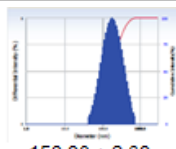
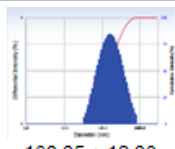
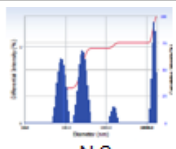
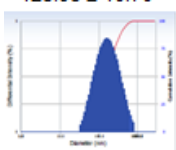
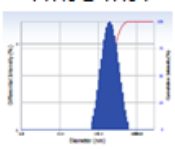
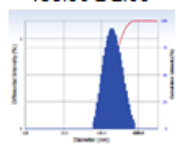
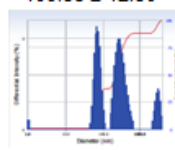
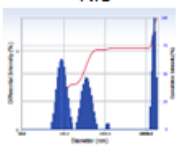
C_E : 20% 에탄올 속에 녹아있는 약물의 농도

C_0 : 처음 넣어준 약물 농도

2.5. *In vitro* 피부 투과 실험(Franz Diffusion Cell)

리퀴리티게닌 및 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 피부 투과 증진을 확인하기 위해 Franz diffusion cell을 이용하여 피부 투과 실험을 진행하였다. 피부 투과 실험에 사용한 쥐의 피부는 경주 탈골로 치사시킨 ICR outbred albino mice (8주령, 암컷)의 등에서 적출하여 사용하였다. 적출한 피부는 피하지방과 조직을 제거한 후 사용하였다. Receptor chamber에 receptor phase (ethanol : PBS = 3 : 7 (w/w %)) 5 mL를 채운 후 각질층이 위로 향하도록 donor와 receptor phase 사이에 피부를 고정시켰다. 실험이 진행되는 동안 항온수조를 이용해 온도를 37 ± 1 $^{\circ}$ C로 유지하였다. 시료를 0.2 mL를 donor 부분의 피부 표면에 가한 후 시간에 따라 매회 0.2 mL의 receptor phase를 sampling port를 통하여 채취하였다. 채취 직후 동량의 receptor phase를 receptor chamber에 보충하였다. 채취한 시료 속 약물의 양은 HPLC를 이용하여 측정하였다. 24 h 후, 각질층과 피부에 남아있는 약물의 양을 측정하기 위해 쥐의 피부를 PBS로 3회에 걸쳐 세척하였다. 세척 후 receptor phase와 닿지 않은 부분을 잘라내고 남은 부분에 대해 tape stripping 법을 이용해 각질층에 남아있는 약물의 양을 따로 측정하였다. 각질층에 남아있는 리퀴리티게닌과 리퀴리틴의 양을 측정하기 위해 테이프를 이용하여 피부의 각질층 부분을 3회 벗겨내었으며 이렇게 얻어진 테이프에 10 mL의 에탄올을 넣고 1 h 동안 초음파 세척기를 이용하여 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 추출하였다. 그 후 회전 증발기를

Table 1. Changes in the Size of Ethosome Vesicles with Different Concentration of Liquiritigenin and Liquiritin

Loading drug (mM)	0.25	0.5	0.75	1	2	
Size of liquiritigenin loaded ethosome (nm)	0W	 107.35 ± 8.84	 133.90 ± 9.79	 143.85 ± 1.06	 146.40 ± 24.46	 165.1 ± 12.30
	1W	 125.75 ± 0.91	 134.75 ± 8.95	 153.90 ± 4.81	 147.30 ± 29.13	 167.45 ± 0.64
Size of liquiritin loaded ethosome (nm)	0W	 125.95 ± 16.76	 147.9 ± 47.94	 158.90 ± 2.69	 169.85 ± 12.80	 N.S
	1W	 143.1 ± 19.66	 175.35 ± 9.31	 188.35 ± 9.26	 N.S	 N.S

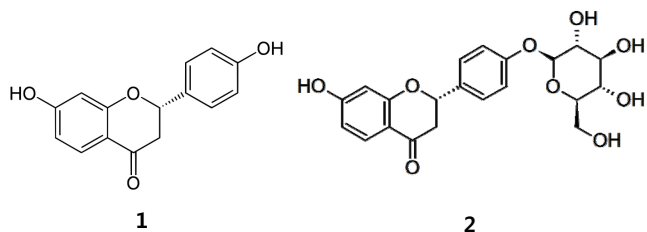


Figure 1. Structure of liquiritigenin (1) and liquiritin (2).

이용하여 에탄올을 증발시키고 추출된 약물을 0.5 mL의 receptor phase에 녹여내었다. Tape stripping법을 거친 후 각질층이 제거된 피부는 수술용 가위를 이용해 세절하였고 세절한 피부의 처리는 tape stripping에서와 동일하게 진행하였다. 이렇게 얻어진 시료 속 리퀴리티게닌과 리퀴리틴의 정량은 최대흡수파장(λ_{max})인 311 nm의 흡광도를 이용하여 HPLC를 통하여 측정하였다.

2.6. 통계처리

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

3. 결과 및 고찰

3.1. 에토솜의 입자 크기

저자들은 이전 연구에서 에탄올 농도에 따른 에토솜을 제조하고 이들의 입자크기 및 안정성 실험을 수행한 바 있다. 실험 결과 20% 에탄올, 2% egg PC를 함유한 경우 안정한 나노 입자를 형성함을 확인하였다[17]. 본 연구에서는 리퀴리티게닌과 리퀴리틴의 농도를 0.25, 0.5, 0.75, 1 mM 및 2 mM로 하여 담지한 에토솜을 제조하였고, 그에

대한 입자 크기는 Table 1에 나타내었다. 먼저 리퀴리티게닌을 담지한 에토솜은 2 mM 리퀴리티게닌을 담지했을 때에도 안정한 단분산 형태로 나타났으며, 리퀴리티게닌의 농도가 증가함에 따라서 입자 크기가 점점 증가하는 것으로 나타났다(Table 1). 반면, 1 mM 리퀴리틴을 담지했을 경우, 비교적 단분산 형태로 나타났으나 2 mM 리퀴리틴을 담지했을 때에는 다분산 형태의 불안정한 입자크기를 나타내었다. 그리고 리퀴리틴의 농도가 증가할수록 입자 크기가 증가하는 것으로 나타났다(Table 1).

1 mM 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 각각 담지한 에토솜의 입자 크기를 비교해보면, 리퀴리티게닌을 담지한 에토솜의 입자 크기는 146.40 ± 24.46 nm이고, 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 입자 크기는 169.85 ± 12.80 nm로 리퀴리틴을 담지한 에토솜이 리퀴리티게닌을 담지한 에토솜보다 더 큰 크기를 갖는 것으로 나타났다. 이는 리퀴리틴이 리퀴리티게닌에서 당이 붙은 배당체이기 때문에 크기가 더 크게 나타난 것으로 판단된다[18].

3.2. 에토솜의 안정성

리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 안정성을 확인하기 위해 1주 동안 입자크기의 변화와 물리적 상태 변화를 확인하였다. 그 결과, 리퀴리티게닌을 담지한 에토솜의 경우, 0.25, 0.50, 0.75, 1 mM 및 2 mM의 농도에서 모두 단분산 형태로 안정하게 나타났고, 크기의 변화도 거의 발생하지 않았다. 배당체인 리퀴리틴의 경우, 0.75 mM을 담지한 에토솜은 1주 뒤에도 안정한 단분산 형태로 나타났지만, 1 mM의 경우 1주 뒤 불안정한 다분산 형태로 나타났으며 침전 현상이 나타났다. 따라서 리퀴리틴을 담지한 에토솜은 0.75 mM을 담지하였을 때, 보다 안정한 형태로 유지됨을 확인하였다(Table 1).

Table 2. Entrapment Efficiency of Ethosome Loaded with Different Concentration of Liquiritigenin and Liquiritin

Ethosome	Loading drug (mM)	Entrapment efficiency (%)
Liquiritigenin loaded	0.25	22.47 ± 6.05
	0.5	38.55 ± 6.25
	0.75	47.51 ± 5.01
	1	48.37 ± 1.59
	2	51.64 ± 2.48
Liquiritin loaded	0.25	43.76 ± 0.82
	0.5	50.03 ± 2.59
	0.75	54.61 ± 9.10
	1	57.98 ± 7.63
	2	----*

* 2 mM의 Liquiritin을 담지한 에토솜은 다분산된 형태로 불안정하게 나타남에 따라 포집효율 측정 불가

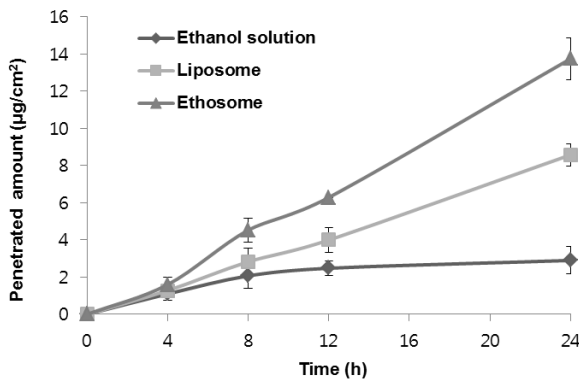


Figure 2. *In vitro* skin-permeation profiles of ethosomes, liposomes, ethanol solution containing liquiritigenin through dorsal mouse skin.

3.3. 에토솜의 포집 효율

리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 포집 효율은 Table 2에 나타내었다. 리퀴리티게닌을 담지한 에토솜의 경우 0.25, 0.50, 0.75, 1 mM 및 2 mM의 농도에서 각각 22.47 ± 6.05, 38.55 ± 6.25, 47.51 ± 5.01, 48.37 ± 1.59% 및 51.64 ± 2.48%로 농도 의존적으로 포집 효율이 증가함을 보였다[17]. 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 경우 각각 0.25, 0.50, 0.75 mM 및 1 mM을 담지했을 때 43.76 ± 0.82, 50.03 ± 2.59, 54.61 ± 9.10% 및 57.98 ± 7.63%로 이 또한 농도 의존적으로 포집 효율이 증가하는 것으로 나타났다. 0.25, 0.50, 0.75 mM 및 1 mM 농도에서 두 제형의 포집 효율을 비교했을 때, 배당체인 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 포집 효율은 리퀴리티게닌을 담지한 에토솜의 포집 효율 보다 더 높게 나타났다. 이는 배당체인 리퀴리틴이 상대적으로 지용성의 아글리콘인 리퀴리티게닌보다 친수성의 성질을 가지기 때문에 베지클 내부로 좀 더 효과적으로 포집되는 것으로 판단된다[11].

3.4. *In Vitro* 피부 투과능 비교

리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 각각 담지한 에토솜의 경피 흡수능을 비교하기 위해 0.50 mM 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 각각 담지한 에토솜을 제조하고, 이를 피부투과실험에 사용하였다. 대조군으로는

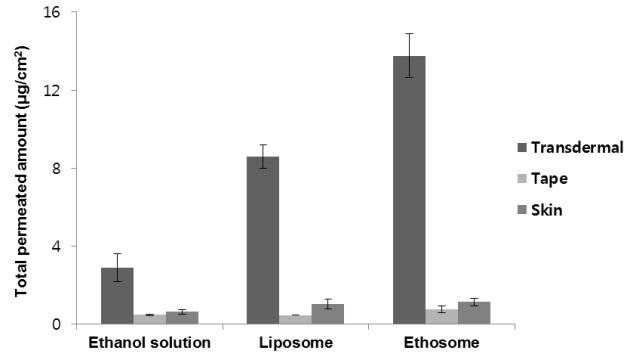


Figure 3. Total permeated amount of liquiritigenin from ethosomes, liposomes, ethanol solution into the mouse dorsal skin after 24 h (Tape : stratum corneum, Skin : dermis and epidermis without stratum corneum, Transdermal : penetration through the skin).

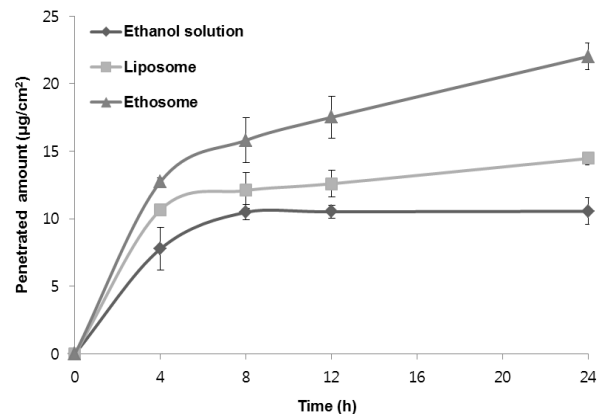


Figure 4. *In vitro* skin-permeation profiles of ethosomes, liposomes, ethanol solution containing liquiritin through dorsal mouse skin.

0.50 mM 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 각각 담지한 리포솜과, 0.50 mM 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 녹인 에탄올 용액을 사용하였다. 먼저, 리퀴리티게닌을 담지한 경우, 24 h 동안 시간에 따른 피부 투과량은 에토솜(13.75 ± 1.12 µg/cm²), 리포솜 (8.58 ± 0.60 µg/cm²), 에탄올 (2.9 ± 0.73 µg/cm²) 순으로 나타났다(Figure 2). 그리고 24 h 후 각질층에 남아있는 리퀴리티게닌의 양은 에토솜(0.77 ± 0.18 µg/cm²) > 에탄올(0.48 ± 0.05 µg/cm²) > 리포솜(0.47 ± 0.01 µg/cm²) 순으로 나타났고, 각질층을 제거한 피부에 남아있는 리퀴리티게닌의 양은 에토솜 (1.14 ± 0.19 µg/cm²) > 리포솜(1.04 ± 0.24 µg/cm²) > 에탄올(0.64 ± 0.11 µg/cm²) 순으로 나타났다(Figure 3). 리퀴리틴을 담지한 경우, 24 h 동안 시간에 따른 피부 투과량은 에토솜(22.01 ± 1.00 µg/cm²), 리포솜(18.16 ± 0.20 µg/cm²), 에탄올(12.13 ± 0.98 µg/cm²) 순으로 높았고 (Figure 4), 24 h 후 각질층에 남아있는 리퀴리틴의 양은 에토솜(5.90 ± 0.50 µg/cm²) > 리포솜(4.72 ± 0.56 µg/cm²) > 에탄올(4.05 ± 0.38 µg/cm²) 순으로 나타났으며, 각질층을 제거한 피부에 남아있는 리퀴리틴의 양은 리포솜(5.25 ± 1.51 µg/cm²) > 에토솜(4.27 ± 0.22 µg/cm²) > 에탄올(3.61 ± 1.03 µg/cm²) 순으로 나타났다(Figure 5). 이러한 결과를 통해 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 에토솜에 담지했을 경우가 대조군에 비해서 활성 성분을 피부 깊숙히 잘 전달시키는 것으로 확인되었다[17]. 리퀴리티게닌 및 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 24 h 후의 경피 흡수능을 비교했을 때, 리퀴리티게닌을 담지한 에토솜은 59.19 ± 4.27%, 리퀴리틴을 담지한 에토솜은 76.60 ± 6.36%로 리퀴리틴을 담

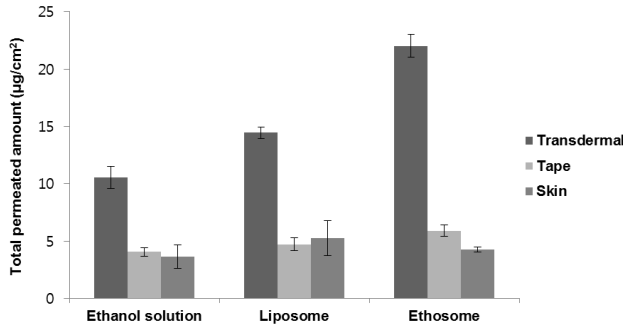


Figure 5. Total permeated amount of liquiritin from ethosomes, liposomes, ethanol solution into the mouse dorsal skin after 24 h (Tape : stratum corneum, Skin : dermis and epidermis without stratum corneum, Transdermal : penetration through the skin).

지한 에토솜의 경피 흡수능이 더 큰 것으로 나타났다(Figure 6). 이는 비교적 지용성의 아글리콘인 리퀴리티게닌은 그와 소수성 정도가 비슷한 각질층까지 주로 침투하여 각질층에 머물러 있는 반면에, 그보다 극성이 큰 배당체인 리퀴리틴은 에토솜의 수화 작용으로 이완된 각질층을 통과 후 극성이 큰 진피층까지 전달되기 때문에 극성이 큰 리퀴리틴이 우수한 피부 투과능을 나타낸 것으로 사료된다[11]. 또한 에토솜에서 인지질 이중층 사이에 존재하는 에탄올이 에토솜의 막의 가변형성을 높이고 피부 각질층의 세포간 지질유동성을 증가시켜 약물의 투과성을 높인 것으로 판단된다.

4. 결 론

본 논문에서는 항산화 및 항노화 활성이 뛰어난 한국산 감초 성분인 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 담지한 에토솜을 제조하였다. 에토솜은 입자 크기와 물리적 변화를 관찰함으로써 안정성을 확인하였고 포집 효율 및 피부 투과능을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 리퀴리티게닌을 담지한 에토솜의 경우 2 mM까지 안정한 단분산 형태로 제조되었으며, 반면에 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 경우 1 mM까지 비교적 안정한 단분산 형태로 제조되었다.

2) 1주간 입자크기 및 물리적 변화를 통해 안정성을 관찰한 결과, 리퀴리티게닌의 경우 2 mM까지 안정하였다. 반면 리퀴리틴의 경우 1 mM 리퀴리틴을 담지한 에토솜은 불안정한 다분산 형태로 입자크기가 측정되었고 침전현상이 나타남에 따라 0.75 mM까지 보다 안정한 형태로 유지됨을 확인하였다.

3) 포집 효율의 경우, 리퀴리티게닌 및 리퀴리틴을 각각 담지한 경우에서 모두 농도의존적으로 포집 효율이 증가하였다. 특히, 같은 농도에서 리퀴리티게닌과 리퀴리틴을 담지한 에토솜의 포집 효율을 비교했을 때, 리퀴리틴이 좀 더 큰 포집 효율을 나타냈다. 이는 배당체인 리퀴리틴이 리퀴리티게닌보다 친수성 성질이 강하므로 베지클 내부에 더 잘 포집될 수 있는 것으로 판단된다.

4) 피부 투과 실험 결과에서는 리퀴리티게닌의 경우 에토솜(59.19%) > 리포솜(38.81%) > 에탄올(15.46%) 순으로 나타났으며, 리퀴리틴의 경우 에토솜(76.60%) > 리포솜(66.95%) > 에탄올(47.14%) 순으로 나타났다. 즉, 에토솜이 대조군에 비해 경피 흡수능이 높은 것으로 알 수 있었고, 이는 에토솜에서 인지질 이중층 사이에 존재하는 에탄올이 막의 유연성을 높여줄 뿐만 아니라, 각질층의 세포간 지질 사이로 약물이 잘 투과할 수 있도록 이점을 준 것을 알 수 있다.

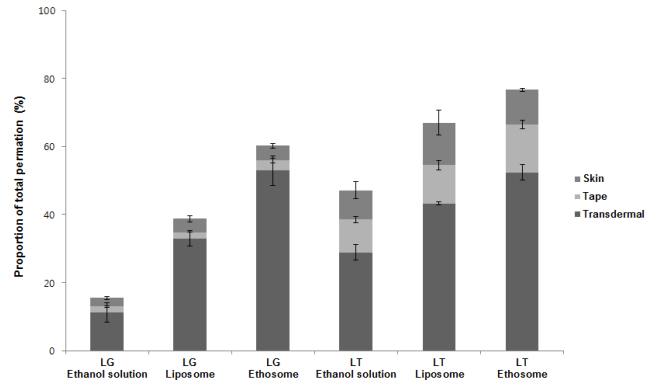


Figure 6. The proportion of total permeated amount of liquiritigenin (LG) and liquiritin (LT) from ethosomes, liposomes, ethanol solution into the mouse dorsal skin after 24 h (Tape : stratum corneum, Skin : dermis and epidermis without stratum corneum, Transdermal : permeated through skin).

따라서 국내산 감초의 활성성분인 리퀴리티게닌과 리퀴리틴의 피부 흡수를 증진시키기 위해 응용된 에토솜 제형은 유효 성분들을 피부 속으로 효율적으로 전달시킬 수 있는 피부 흡수 시스템으로서 항노화 및 항산화 기능성 화장품에 응용가능성이 있음을 시사한다.

감 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ008489)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사합니다.

References

- S. B. Han, H. A. Gu, S. J. Kim, H. J. Kim, S. S. Kwon, H. S. Kim, S. H. Jeon, J. P. Hwang, and S. N. Park, Comparative study on antioxidative activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* extract by country of origin, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **39**, 1-8 (2013).
- S. Wang, M. Gue, J. Cong, and S. Li, Facile optimization for chromatographic separation of liquiritin and liquiritigenin, *J. Chromatogr. A*, **1282**, 167-171 (2013).
- H. J. Kim, J. Y. Bae, H. N. Jang, and S. N. Park, Comparative study on the antimicrobial activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* extracts with various countries of origin as natural antiseptics, *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, **41**, 358-366 (2013).
- E. J. Yang, G. H. Park, and K. S. Song, Neuroprotective effects of liquiritigenin isolated from licorice roots on glutamate-induced apoptosis in hippocampal neuronal cells, *Neurotoxicology*, **39**, 114-123 (2013).
- J. J. Thiele, C. Schroeter, S. N. Hsieh, M. Podda, L. Packer, J. Thiele, and P. Elsner, Oxidants and antioxidants in cutaneous biology, *Curr Probl Dermatol.*, **29**, 26-42 (2001).
- V. S. Sylvie and F. Bonte, Skin hydration : A review on its molecular mechanisms, *J. Cosmetic Dermatol.*, **6**, 75-82 (2007).
- Y. J. Ahn, B. R. Won, M. K. Kang, J. H. Kim, and S. N. Park, Antioxidant activity and component analysis of fermented *Lavendula angustifolia* extracts, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **35**,

- 125-134 (2009).
8. A. Naqui and B. Chance, Reactive oxygen intermediates in biochemistry, *Ann. Rev. Biochem.*, **55**, 137-166 (1986).
 9. H. G. Yang, H. J. Kim, H. S. Kim, and S. N. Park, Ethosome formulation for enhanced transdermal delivery of *Artemisia princeps* Pampanini extracts, *Appl. Chem. Eng.*, **24**, 190-195 (2013).
 10. H. A. Gu, H. S. Kim, M. J. Kim, E. R. Yu, G. Joe, J. Jang, B. Kim, and S. N. Park, Characterization and transdermal delivery of ethosomes loaded with *Eucommia ulmoides* Extract, *Appl. Chem. Eng.*, **24**, 639-644 (2013).
 11. S. J. Kim, S. S. Kwon, S. H. Jeon, E. R. Yu, and S. N. Park, Enhanced skin delivery of liquiritigenin and liquiritin-loaded liposome-in-hydrogel complex system, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **36**, 553-560 (2014).
 12. S. N. Park, L. M. Sun, M. A. Park, S. S. Kwon, and S. B. Han, Transdermal delivery of quercetin using elastic liposomes: preparation, characterization and *in vitro* skin permeation study, *Polymer*, **36**, 705-711 (2012).
 13. H. A. Gu, M. J. Kim, H. S. Kim, J. H. Ha, E. R. Yu, and S. N. Park, Characteristics and cellular protective effects against UVA of cationic liposome loaded with quercetin and rutin, *Appl. Chem. Eng.*, **26**, 165-172 (2015).
 14. Y. P. Fang, Y. H. Tsai, P. C. Wu, and Y. B. Huang, Comparison of 5-aminolevulinic acid-encapsulated liposome versus ethosome for skin delivery for photodynamic therapy, *Int. J. Pharm.*, **356**, 144-152 (2008).
 15. D. Paolino, G. Lucania, D. Mardente, F. Alhaique, and M. Fresta, Ethosomes for skin delivery of ammonium glycyrrhizinate: *in vitro* percutaneous permeation through human skin and *in vivo* anti-inflammatory activity on human volunteers, *J. Control. Release*, **106**, 99-110 (2005).
 16. Y. P. Fang, Y. B. Huang, P. C. Wu, and Y. H. Tsai, Topical delivery of 5-aminolevulinic acid-encapsulated ethosomes in a hyperproliferative skin animal model using the CLSM technique to evaluate the penetration behavior, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **73**, 391-398 (2009).
 17. S. N. Park, H. J. Lee, H. S. Kim, M. A. Park, and H. A. Gu, Enhanced transdermal deposition and characterization of quercetin-loaded ethosomes, *Korean J. Chem. Eng.*, **30**, 688-692 (2013).
 18. S. N. Park, H. J. Lee, and H. A. Gu, Enhanced skin delivery and characterization of rutin-loaded ethosomes, *Korean J. Chem. Eng.*, **31**, 485-489 (2014).