

Hydrogenated Lecithin과 Co-emulsifier를 사용한 Nano-some의 제조 메커니즘과 Kojic Acid 및 Kojic Dipalmitate의 캡슐화 방법

김인영 · 제구환 · 이주동

제일제당(주) 피부과학연구소
(2000년 11월 8일 접수: 2000년 11월 29일 채택)

The Manufacturing Mechanism of Nano-some and Method of Capsulation of Kojic
Acid and Kojic Dipalmitate with Hydrogenated Lecithin and Co-emulsifiers

In-Young Kim · Koo Hwan Jae · Joo Dong Lee

*Cheiljedang Corp., Cosmetic & Household Product R & D Center,
51-1, 3-Ka, Shin Hung-Dong, Chung-Ku, In-Chon, Korea
(Received November 8, 2000; Accepted November 29, 2000)*

Abstract : We investigated the property of formation of mono-vesicle (designated nano-some) with using of the combined co-emulsifiers and phospholipid. Nano-some was prepared with hydrogenated lecithin (HL) and diethanolamine cetyl phosphate (DEA-CP) by swelling reaction. Kojic acid and kojic dipalmitate could be made stabilization by nano-some system using microfluidizer (MF). Nano-some has a good affinity to skin by means of this system. The composition was compounded by 2% of hydrogenated lecithin (phosphatidyl choline contained with 75%, 0.5% of DEA-CP and 0.5% of diglycerol dioleate (DGDO)). To make nano-some, several conditions of MF have to be considered as follows. The optimum pH was 6.0. The pressure was 10,000psi and passage temperature was at 30°C. The nano-some base was passed to homogenize continually 3 times through MF. The Particle size distributions of the vesicles were with in 57~75.7nm (mean 66nm) by measuring the Zetasizer-3000. Zeta potential of vesicles with 3 times passage through MF was -24.8mV. Formations for nano-some vesicle certificated photograph by scanning electric magnification (SEM). Stability of nano-some was very good for 6months. The turbidity was very good transparency compared nano-some with liposome. It was formed the mono vesicle in the opposite direction to be formed the multi-lamellar vesicle of liposome.

1. 서론

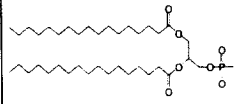

일반적으로 계면활성제가 물에 용해 되었을 때 미셀(micelle)을 형성한다. 리포솜(Liposome)은 인지질(phospholipid) 같이 친유 부분이 2개가 붙어 있는 분자가 평면상으로 볼 때 직사각형을 이루고 이것을 물에 분산시켰을 때 구상이 아닌 2분자 막(bi-layer)이 형성되고 이러한 소포체를 말한다.[1]

또한 인지질과 계면활성제를 혼용으로 사용하여 물에 분산시켰을 때 미셀이 아닌 라멜라(lamellar) 형태의 단분자 막(mono-layer)이 형성된다. 본 연구에서는 이러한 소포체를 나노솜(nano-some)이라 명명하였다. 이것은 리포솜에 비하여 베지클의 크기를 미세하게 만들어 활성 성분을 보다 안정하고,

피부의 경피 흡수를 빠르게 만들어 적은 양으로도 효능을 극대화 시키는데 목적을 두어 연구를 수행하였다.

일반적으로 리포솜에 사용되고 있는 성분은 Table 1에 나타난 바와 같이 phosphatidyl- 헤드 그룹에 -choline, -ethanolamine, -serine, -acid, -glycerol, -inositol과 같은 말단기를 붙인 인지질들로 구성되어 있으며, 이러한 성분들은 이중 층의 폐쇄 막을 형성하여 물과 평행 상태에 있는 분자단 들이 리포솜에 사용되고 있는 대표적인 물질들이다. 리포솜은 Bangham[23]에 의해 처음으로 발견된 이래 화장품이나 의약품 부문에서 오늘날까지 많은 발전을 가져왔다. 최근, 비타민C 및 그 유도체, 레티놀 및 그 유도체의 안정성을 유지할 수 있는 방법과 더

Table 1. The Several Components of Generally Various Liposomes

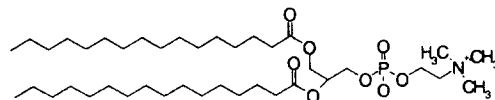
| Phosphatidyl moiety | Head group | Common name |
|---|---|--------------|
|  | $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \text{H}_2 \\ \\ \text{C} \text{H}_2 \\ \\ \text{C} \text{H}_2 \end{array} \\ \\ \text{H} \end{array}$ | Choline |
| | $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{C} - \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_2 \end{array}$ | Ethanolamine |
| | $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{NH}_2 \\ \\ \text{C} \text{O} \text{O} \end{array}$ | Serine |
| | O-H | Acid |
| | $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{C} \begin{array}{l} \text{H}_2 \\ \\ \text{O} \text{H} \\ \\ \text{O} \text{H} \end{array} \\ \\ \text{H}_2 \end{array}$ | Glycerol |
|  | Inositol | |

많은 양의 활성 성분을 피부 속으로 침투시켜 약효를 극대화시키기 위하여 delivery system[4]에 많이 응용되고 있는 대표적인 기술이 바로 리포솜이다.

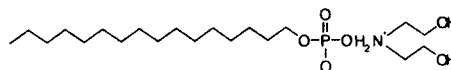
일반적으로 리포솜의 크기는 200~3,500nm범위로 비교적 베지클의 크기가 넓게 분포되어 있다고 할 수 있다. 리포솜의 크기는 SUV(small uni-lamellar vesicle)가 20~50nm, LUV(large uni-lamellar vesicle)가 200~1,000nm, MLV(multi-lamellar vesicle)가 400~3,500nm정도로 종류마다 각각 크기가 다르며, 입자의 분포도 또한 넓게 분포되어 있다.[5]

이러한 리포솜의 이론을 근거로 하여 프랑스 Sero 연구소에서 개발한 니오솜(nio-some)[6]은 Fig.1에 나타낸 바와 같이 nonionic surfactant vesicle(NSV)이라고도 하며 안정한 비이온 계면 활성제로 구성되어 있는 리포솜과 같은 유사 구조를 가지고 있는 소포체를 개발 하였다. 이들에 의하면 니오솜을 만들 수 있는 주요 계면활성제들로서 polyoxyethylene alkylether, (POE)_n alkyl ester, saccharose diester 등의 원료들이 많이 사용되고 있다.[7,8] 비이온 계면활성제로 구성된 니오솜은 비이온 계면활성제로 이용되는 것이 glycerin moiety에 phosphate 유도체를 접목시켜 양 친매성을 갖도록 만들어 사용하고 있는 것이 주된 특징이라 할 수 있다.[9,10] 또한 니오솜은 리포솜에 비하여 베지클의 크기를 작게 만들 수 있으므로, 유효 성분에 대하여 피부 흡수량을 높일 수 있는 반면 자극이 다소 있을 수 있으므로 체계적인 검증이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 니오솜과 리포솜의 특징을 응용하여 좀 더 작고, 균일한 베지클을 만들고자 하였다. 나노솜은 리포솜이나 니오솜보다 경피 흡수를 증가시키고, 입자의 분포 및 크기를 일정하게 만들어 약효의 성분을 일정하게 포접 안정화 할 수 있도록 만들기 위해서, 이 이론을 도입하게 되었다.



(a) Phosphatidyl choline



(b) Diethanolamine cetylphosphate

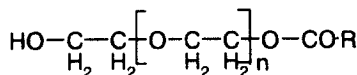
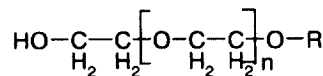
(c) (POE)_n-alkylester(d) (POE)_n-alkylether

Fig. 1. A generally various molecular structure of nano-some and nio-some components: (a), (b):nanp-some components, (c), (d):nio-some components.

또한, 나노솜을 만드는 메커니즘과 이를 이용한 kojic 유도체들을 캡슐안에 포접시키는 방법에 대하여 연구하였다. 우선 나노솜을 만들기 위하여 리포솜의 성분인 hydrogenated lecithin (이하HL), diethanolamine cetylphosphate(이하DEA-CP)와 diglycerol diolate(이하 DGDO)를 적절히 이용하였으며, 이를 가장 안정한 상태로 만들기 위한 조성비와 가장 일정한 크기로 만들기 위하여 Microfluidizer(이하MF)라는 고압을 이용한 미세 균질화 장비를 사용하여 pH, 온도, 통과압력, 통과횟수 등의 각 조건에 있어 최적 조건을 잡았다. 또한, 화장품 산업에서 피부의 미백 성분으로 많이 사용되고 있는 kojic acid와 kojic dipalmitate를 나노솜에 캡슐화시켜 안정성을 확보하데 주 목적을 두고자 하였다.

2. 실험

2.1. 시약

나노솜을 만들기 위하여 HL은Lipoid사(Germany), DEA-CP는Roche사(Switzerland), DGDO는Nikko chemical사(Japan)의 시약을 사용하였다.

나노솜 안에 캡슐화 시키기 위한 core 성분으로는 kojic acid(Ichimaruru Pharcos, Japan)와 kojic dipalmitate(Sino Lion, Japan)를 사용하였다. 나노솜을 형성하기 위한 보조 원료로써 글리세린(Henkel, Germany)을 사용하였고, 정제수는 음.양이온 교환수지를 통과시킨 deionized water를 사용하였다.

2.2. 기기

나노솜을 보다 더 미세 균질화 시키기 위하여 Microfluidics사(USA)의 Microfluidizer M-110Y를 사용하였다. 이 기기는 높은 압력을 이용하여 미세 균질화 시키는 장치로서 물리적인 방법으로 나노솜을 만드는 가장 적당한 기기 중 하나이다. 또한, 나노솜 베지클의 사이즈 및 분포를 측정하기 위하여 Particle sizer는 영국의 Melvern사의 모델 Zetasizer-3000을 사용하였으며, 이 기기는 나노 사이즈를 측정할 수 있도록 설계된 장비이다. 그밖에 나노솜의 형성 여부를 확인하기 위하여 동결건조 공법을 이용한 Scanning Electronic Microscope (SEM)을 이용하여 확인하였다.

2.3. 나노솜의 제조 메커니즘

나노솜은 리포솜을 만드는 방법과 유사하다. 우선 2wt%의 HL, 0.5wt%의 DGDO를 클로로포름과 메탄올을 8:2의 중량 비로 만들어진 용매에 용해한

다음, core 성분인 kojic acid 와 kojic dipalmitate를 넣어 충분히 분산 용해 시켰다. 이를 5%의 glycerin과 합이 100%가 되도록 정제수로 채운 후 충분히 혼합하였다. 완전히 교반시킨 후 60°C에서 용매를 완전히 증발시키고, 30°C 까지 냉각한 다음 MF에 일정한 조건으로 통과시켜 균질한 나노솜을 형성 시켰다. 나노솜의 제조 방법은 Fig 2에 나타난 바와 같은 스텝을 사용하였다. 이 베지클에 포접되는 core 물질도 다양화 되고 있다. 기존의 기술들은 리포솜이 사이즈가 불규칙하게 형성되는 단점을 가지고 있으나 본 연구에서는 한 층 더 균일화 된 50nm 정도의 나노 크기의 베지클을 만드는 것이 가장 중요한 기술적 부분이라고 할 수 있다. 또한, 활성 성분을 피부의 각질층까지 도달 할 수 있도록 만드는 것이 무엇보다도 중요한 기술이기 때문이다. 나노솜은 2wt%의 HL와 0.5wt%의 DGDO를 함유하고 DEA-CP를 0, 0.5, 1.0, 1.5와 2.0wt%의 계면활성제를 증량시키면서 나노솜의 입자 크기를 측정하여 계면활성제의 최적 함량을 설정하였다.

2.4. 나노솜 베지클의 크기 측정

Fig. 2에 나타난 바와 같이 만들어진 나노솜의 크기와 입경분포도를 측정하기 위하여 습도 70%, 25°C의 incubator에 48시간동안 숙성시킨 후 nm. 크기를 측정할 수 있는 Zetasizer-3000 (Melvern corp.,

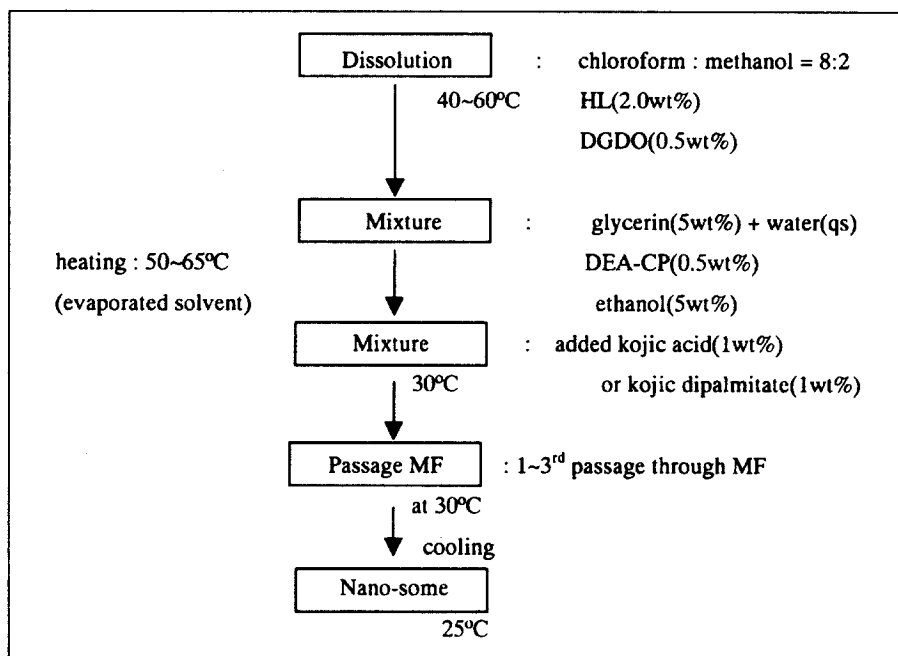


Fig. 2. The manufacturing method of nano-some with MF.

England)의 입자 크기 측정기를 이용하여 베지클의 크기 및 분포도를 측정하였다. MF를 사용했을 경우 통과 횟수에 따라 입경 크기의 변화를 측정하였으며, 이는 현탁도에 많은 영향을 줄 수가 있다.

2.5. 나노솜의 형성 측정

MF를 이용하여 미세 균질화 시킨 나노솜에 kojic acid와 kojic dipalmitate를 캡슐화 시킨 시료에 대하여 베지클이 형성되었는지 또 그 입경의 크기는 어느 정도 인지를 측정하기 위하여 시료를 동결건조 시킨 후 SEM을 이용하여 약 80,000배율로 확대 촬영하여 입자의 모양과 크기를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 나노솜과 리포솜의 특징 비교

나노솜과 리포솜은 베지클의 입자 모양, 구조부터 다르다. 리포솜은 물에 분산시켰을 때 이중 층(bi-layer)으로 형성하지만 나노솜은 mono-vesicle이 형성된다. 따라서 유상 원료만 포접이 가능한 단점이 있으나, 수용성 활성 성분도 함께 사용했을 경우 일반 에멀전 보다는 피부의 침투 효과 크다고 할 수 있다. 이는 나노 크기의 베지클에 포접시킬 수 있는 양적인 한계가 있을 것으로 사료되며, 피부 침투를 극대화시킬 수 있는 가장 좋은 방법이 기 때문이다.

본 연구에서는 리포솜의 특징과 강점을 나노솜과 비교하여 Table 2에 나타내었다. 화장품 산업에서 리포솜이 가지고 있는 특징을 살펴보면 첫째, 생체막 유래의 지질을 사용했다는 것이고, 이는 피부와의 친화력이 가장 우수한 성분이기 때문이다. 둘째, 열역학적으로 불안정한 물질을 안정화시킬 수 있

는 특징을 가지고 있다. 최근 레티놀 및 그 유도체를 비롯하여 비타민C, Coenzyme-Q10과 같은 물질들을 안정화 시키는 기술로 많이 활용되고 있다.[11] 셋째, 리포솜은 피부 침투 속도를 조절하는 전달체계(delivery system)로 많이 활용되고 있지만, 리포솜은 나노솜에 비하여 입자가 크며, 불규칙하다는 단점을 가지고 있다. 따라서 활성 성분의 캡슐양도 불규칙하여 정확한 품질관리 및 효능을 발휘하기가 어려운 단점을 가지고 있다.[12]

또한, Skin care화장품에 적용시 사용감이 끈적이므로 많은 양을 사용하기가 어려우므로 나이트 크림이나 아이크림 제형에 일부 응용되고 있다.

3.2. 나노솜과 리포솜의 제조 및 구조적 특징

Fig. 3에 나타낸 바와 같이 나노솜의 제조는 앞에서 서술한 바와 같으며, 2wt%의 HL, 0.5wt%의 DEA-CP와 0.5wt%의 DGDO를 혼합한 베이스에 활성 성분인 1wt%의 kojic acid와 1wt%의 kojic dipalmitate를 캡슐화시켜 나노 사이즈로 만드는 것이다.

인지질인HL, 계면활성제인 DEA-CP와 DGDO가 혼합되었을 경우, 입체적으로 보아 구상의 모노 베지클이 형성되며 Fig. 3에 나타난 모델과 같이 형성된다. 이 때 DEA-CP와 0.5wt%의 DGDO를 사용하지 않을 경우에는 mono-vesicle이 아니라 이중 층이 형성된다. 계면활성제의 선택에 있어 일반 polysorbate-20이나 지방산 캐스터오일과 같은 성분을 사용할 경우mono-vesicle이 형성되지 않는다. DEA-CP의 경우 양친매적 특성을 가진 원료로서 HL와 함께 사용할 경우 무엇보다도 안정한 mono-vesicle이 형성 된다는 것을 실험을 통해 알 수 있었다.

나노솜과 리포솜의 입자크기를 Table 3과 같은

Table 2. A Compared with Property for Nano-some and Liposome

| Peculiarity | Nano-some | Liposome |
|---------------|--|---|
| Vesicle Size | -30~60nm(mean54nm) : | -50~3,500nm: |
| Capsulization | very homogeneous size distribution | irregular size of distribution |
| Specification | -only oil soluble ingredients | -capsulation of oil and water soluble ingredients |
| | -increased penetration on the skin | -improved activity of the transported cosmetic active |
| | -improved activity of the transported cosmetic active | -lipid core surrounded by a phospholipid |
| | -lipid core surrounded by a phospholipid/co-surfactant | - feeling touch : rich and oily |
| | -feeling touch : silky and light | |

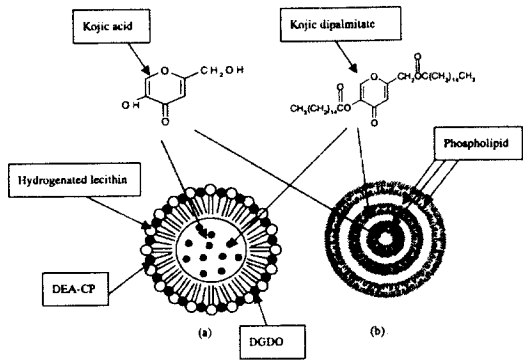


Fig. 3. The formation of nano-some with HL, DEA-CP and DGDO (a) the structure of nano-some, (b) the structure of liposome.

Table 3. Particle Size Distribution Compared Nano-some with Liposome

| Remarks | HL (%) | DEA-CP (%) | Diglyceryl dioleate (%) | Particle size (nm) |
|-----------|--------|------------|-------------------------|--------------------|
| Liposome | 0.5 | - | - | 176 |
| | 1.0 | - | - | 240 |
| | 1.5 | - | - | 270 |
| | 2.0 | - | - | 400 |
| | 3.0 | - | - | 780 |
| | 5.0 | - | - | 1,130 |
| Nano-some | 2.0 | 0.5 | - | 97 |
| | 2.0 | 1.0 | - | 85 |
| | 2.0 | 1.5 | - | 69 |
| | 2.0 | 0.5 | 0.1 | 66 |
| | 2.0 | 0.5 | 0.3 | 62 |
| | 2.0 | 0.5 | 0.5 | 54 |
| | 2.0 | 0.5 | 1.0 | 43 |

실험을 통하여 비교 측정해 보았다. 제조방법은 동일한 조건으로 수행하였다. Table 3에서 보는 바와 같이 HL만을 사용한 리포솜 베이스에서는 그 입자 사이즈가 작게는 176nm 이상, 크게는 1,130nm 정도로 큰 베지클이 형성되었다. 이것은 HL만 사용하였을 경우에는 베지클이 이중층 또는 다중층로 형성되고 있기 때문이다.

그러나 나노솜은 HL, DEA-CP와 DGDO를 복합으로 사용하였기 때문에 입자 사이즈가 균일 하면서 일정한 나노입자 크기로 형성 되었음을 확인할 수 있었다. 이는 DEA-CP의 영향으로 가용화력이 우수하며, HL와 선택적으로 친화력이 우수하여 mono-layer가 형성되는 것으로 판단된다. 따라서 HL구조사이에 계면활성제인 DEA-CP와 DGDO가 미세하게 붙어 가용화 기능과 베지클을 작게 형성

시키게 크게 기여하는 것으로 사료된다. 또한, 이를 MF에 통과시킴으로써 미세한 나노솜을 만들 수가 있었다. Fig. 3a에 나타낸 바와 같이 mono-vesicle속에는 kojic acid 와 kojic dipalmitate를 캡슐화 시킬 수가 있었다.

나노솜은 리포솜(Fig. 3b)과 달리 이중층이 형성되어 보다 많은 양의 활성 성분을 포접시킬 수 있는 장점을 가지고 있지만 그 입자 크기가 크고 불균일하여 피부 침투를 보다 효과적으로 발휘 할 수가 없었다.

3.3. MF를 사용한 나노솜 형성의 최적조건

실험2,3항의 실험방법에 의하여 만들어진 나노솜을 좀 더 미세 균질화 시키기 위하여 기계적인 방법을 사용하였다. 이러한 방법은 ultrasonication 방법, homogenization 법 등 여러 가지가 있으나, 본 실험에서는 microfluidization법을 적용시켰다.[3] 그 이유는 화장품에 있어서 가장 안정하게 할 수 있는 방법이기 때문이기도 하며, 나노 크기로 미세 균질화 하는데 가장 적합한 방법이기 때문이다. 가장 균일한 나노 크기의 베지클을 얻기 위하여 MF를 사용하는데 있어, 캡슐화 되는 시료에 대하여 온도의 영향, pH조건, 통과 압력의 영향 및 통과 횟수의 영향 등 여러 가지 조건을 설정해 주어야만 가장 안정한 나노솜이 형성될 수 있다.

3.3.1. pH의 조건

pH조절은 citric acid와 NaOH 10wt%의 중량 농도로 용해하고 원하는 pH로 조절하여 나노솜을 제조하였으며, 각 시료에 대하여 MF의 통과 조건은 10,000psi에서 3회 통과시켜 이에 대한 입자 크기의 분포도를 관찰하였다. pH범위는 4.0~10.0 범위에서 실험하였으며, 이는 화장품에 사용될 수 있는 적정 범위이기 때문이다. pH변화에 따른 나노솜 베지클의 입자 크기는 Fig. 4에 나타낸 바와 같이 산성에서나 알칼리성에서도 일정한 크기를 형성하고 있어 pH의 영향을 받지 않는다는 것을 알 수 있었다.

3.3.2. 온도의 영향

Table 4의 조성물로 하여 나노솜을 만든 다음, 나노솜의 입자 크기를 균일하게 하기 위하여MF에 시료를 통과시키는데 있어 온도의 영향에 대하여 실험하였다. 본 실험에서는 온도를 20℃에서 70℃까지 변화시켜 가면서 베지클 크기의 영향에 대하여 관찰한 결과 Fig. 5에 나타낸 바와 같이 온도에 대한 영향에 관계없이 안정한 베지클을 얻었음을 알 수 있었다. 하지만 활성 성분을 캡슐화 시키는데

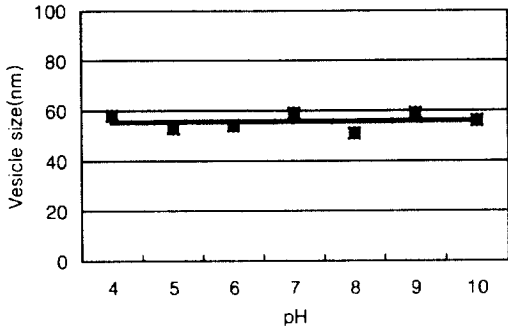


Fig. 4. Effect of pH for the formation of nano-some by passage through microfluidizer.

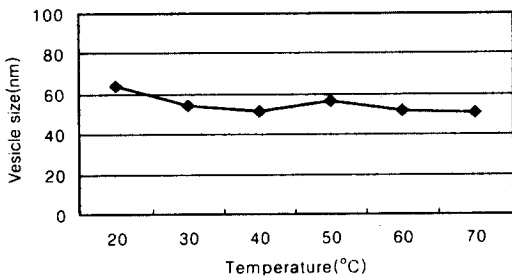


Fig. 5. Optimum condition of temperature for formation of nano-some by passage through microfluidizer.

있어 열에 불안정한 성분인 경우 40°C 이상에서는 그 활성이 하락될 수 있으므로 가능한 40°C 이하에서 MF에 통과시키는 것이 가장 적합하다고 할 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 통과 온도를 30°C로 고정하여 실험하였다. 그 이유는 kojic acid 유도체들의 높은 온도에 대한 안정성이 좋지 않기 때문이다.

3.3.3. MF통과 압력의 영향

MF에 통과시키는데 있어 압력 조건은 4000

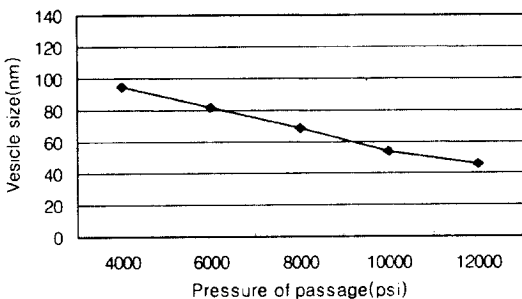


Fig. 6. The optimum condition of the pressure by using microfluidizer.

~12000psi까지 2000psi단위로 증가시키면서 이에 대한 베지클 형성에 대하여 관찰하였다. Fig. 6에 나타난 바와 같이 저압력인 2,000~8,000psi에서는 베지클의 크기는 못하여 60~100nm 수준으로 작아지지만 균일하지 못하고 비교적 입자가 컸으며, 10,000psi이상에서는 아주 균일하고 미세한 입자 크기를 형성하고 있음을 알 수 있었다. 따라서 기계의 조건이나 성능 및 효율성을 고려하여 10,000psi로 고정시켜 모든 실험을 진행하여 일관성 있는 결과를 가질 수 있도록 하였다.

3.3.4. MF통과 횟수의 영향

최적의 나노좀을 제조하는데 있어 온도 30°C, pH=6.0, MF의 통과 압력을 10,000psi로 설정하였으며, 또한 MF의 통과 횟수에 대한 베지클의 형성 여부를 실험하였다. 그 결과 Fig. 7에서 보는 바와 같이 통과 횟수에 따라 베지클의 크기가 크게 달라짐을 확인할 수 있었다. MF에 통과시키지 않았을 경우의 베지클 크기는 247.4nm 이었고, 1회 통과시 107.9nm, 2회 통과시 77.0nm, 3회 통과시 66nm, 4회에서 7회까지 연속 통과시에는 베지클의 크기가 52nm에서 48nm정도로 베지클의 크기가 3회 통과 이상보다 크게 작아지지 않았으므로 경제성과 효율성을 가만하여 3회 통과시가 가장 적합함을 알 수 있었다.

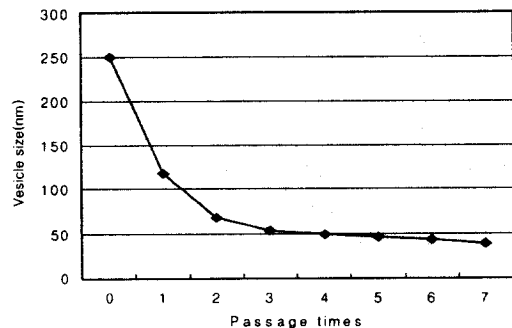


Figure 7. Effect of the passage times in order to make nano-some by using microfluidizer.

3.4. 나노좀의 현탁도 및 분포도 측정

MF에 적용시 4가지 영향에 대하여 각각 최적 조건을 설정하여 나노좀을 제조하였으며, 이 조건은 수많은 반복 실험을 거쳐 설정하였다. 위의 조건을 만족시키면서 나노좀을 만들고 거기에 kojic acid와 dipalmitate를 캡슐 안정화 시켰다. 이 시료를 일반적인 리포좀으로 만들어진 시료와 현탁도를 비교 관찰하였다.

Fig. 8은 Table4의 Formula A에 대하여 현탁도를 관찰한 사진이다. Control을 정제수(Fig. 8a)로 하였고, B는 나노솜(Fig. 8b), C는 리포솜(Fig. 8c)이다. 현탁도는 육안관찰로 평가하였다. Fig. 8에서와 같이 나노솜(Fig. 8b)이 리포솜(Fig. 8c)보다 투명도가 현격하게 투명하다는 것을 확인할 수 있었다. 현탁도의 정도에 따른 입자 크기를 측정하여 투명도를 관찰하였다. 또한 입자의 분포도를 측정하기 위하여particle sizer인 Zetasizer-3000을 사용하여 분포도를 측정하였다. 나노솜의 크기는 MF에 통과 전의 시료는 247.4nm, 1회 통과 107.9nm, 2회 통과 77.0nm이었으며, 3회 통과시의 입자 크기는 57~75.7nm범위로, 평균 66nm크기로 분포(Fig. 9)하고 있음을 알 수 있었다. 또한 리포솜과 비교할 경

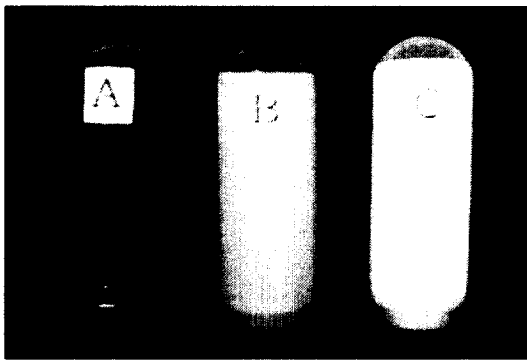


Fig. 8. The photograph of turbidity compared nano-some with liposome (a) control, (b) nano-some, (c) liposome.

Table 4. The Composition of Nano-some with Hydrogenated Lecithin and Diglyceryl Dioleate

| Ingredients | Content (%) | |
|----------------------------|-------------|-----------|
| | Formula A | Formula B |
| A) Phase | | |
| Hydrogenated Lecithin (HL) | 2.00 | 2.00 |
| Diglyceryl dioleate (DGDO) | 0.50 | 0.50 |
| B) Phase | | |
| DEA-CP | 0.50 | 0.50 |
| Glycerin | 5.00 | 5.00 |
| Ethanol | 5.00 | 5.00 |
| Preservatives | 0.20 | 0.20 |
| Water | QS | QS |
| C) Additives | | |
| Kojic acid | 1.0 | - |
| Kojic dipalmitate | - | 1.0 |

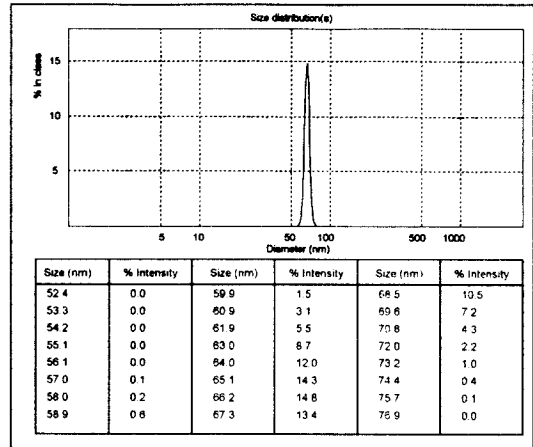


Fig. 9. Distribution of particle for formation of nano-some by microfluidizer

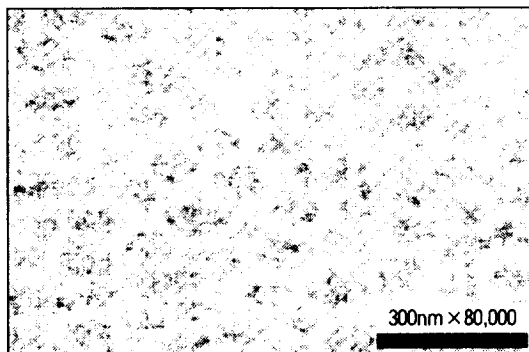
우 90~965nm범위(평균437nm)로 넓게 분포하고 있어, 나노솜이 리포솜 보다 훨씬 작은 크기가 형성됨을 확인할 수 있었다.

3.5. 나노솜의 형성 관찰

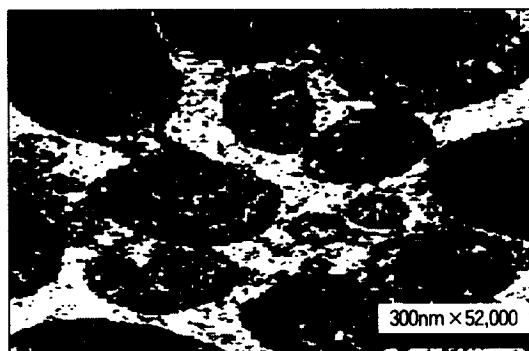
나노솜의 입자는 작아졌지만 나노솜이 형성되었는지를 확인하기 위하여 SEM을 이용하여 Table 4의 Formula A를 현미경으로 관찰하였다. 현미경의 배율은 80,000배로 확대하여 측정하였으며, 이를 Fig. 10에 나타내었다. Fig. 10에서 보는 바와 같이 나노솜이 완전하게 모노머로 형성되어 있음을 확인할 수 있었으며, 입자의 직경이 약 72nm임을 SEM 사진을 통하여 재확인하였다. 일반 리포솜의 경우에는 다중층으로써 약489nm의 큰 베지클이 형성하고 있음을 확인할 수 있었다. 이 결과는Zetasizer-3000으로 측정한 결과와 일치됨을 알 수 있었다.

3.6. Zeta Potential에 의한 나노솜의 안정성

Table 4의 나노솜의 조성으로 만든 시료에 대하여 Zeta-3000을 이용하여 zeta potential을 측정하여 안정성을 관찰 하였다. 증류수를 이용하여 zeta potential를 기준점으로 잡은 다음,시료를 직접 적용하여 zeta potential값을 측정하였다. Fig. 11에 나타난 바와 같이 MF에 통과하지 않은 시료의 zeta potential은 -5.8mV, 1회 통과 시료는 22.8 mV, 2회 통과 시료는 23.8 mV, 그리고 3회 통과 시료는 -24.8mV로 3회 통과 시의 zeta potential 값이 가장 양호하였다. 일반적으로 zeta potential에 의하여 에멀전의 안정성을 측정할 경우 20이상이면 그 계는 안정하다고 판단한다. 이 결과에서도 나노솜을 만든



(a)



(b)

Fig. 10. Photograph of nano-some by measuring SEM with the freeze-fractured method (a) nano-some (mean size 64nm), (b) liposomes (mean size 296nm).

후 MF에 통과하지 않은 시료보다 통과한 시료에서 상 안정성이 훨씬 좋다는 것을 확인할 수 있었다.

4. 결론

나노솜을 제조하기 위하여 2wt%의 HL, 0.5wt%의 DEA-CP와 0.5wt%의 DGDO를 혼합하여 나노솜을 만들고, 1wt%의 kojic acid와 1wt%의 kojic dipalmitate를 모노 베지클에 넣어 안정화 시켰다. 나노솜의 활성성분을 피부속으로 빠르고 많은 양을 침투시키기 위한 방법으로 MF에 통과시켰으며, 나노솜을 안정화 시키고, 미세 균질화 시키는데 있어 MF사용의 각 조건에 대하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

첫째, pH는 산성, 중성, 알칼리성에서 모두 안정했으며, 피부의 안전성을 고려하여 pH=6.0으로 설정하였다. 둘째, MF에 시료를 통과시키는 온도에 대한 조건은 20~70°C범위에서 안정하였으나, 활성

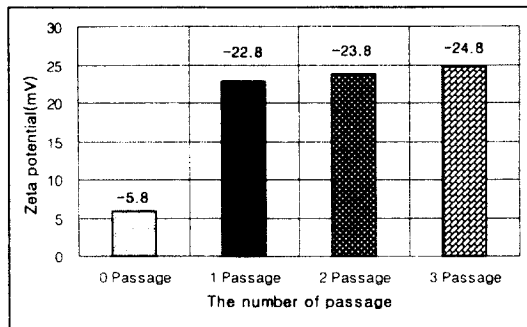


Fig. 11. Stability of nano-some for passage through microfluidizer by measuring zeta potential.

성분의 열적 안정성을 우려하여 30°C이하로 설정하였다. 셋째, MF의 통과시킬 경우 가장 적당한 압력은 10,000psi가 가장 적합하였다. 넷째, MF의 통과 횟수의 영향은 3회 통과시가 가장 안정하였다.

나노솜을 일반 리포솜과 현탁도를 유관으로 관찰한 결과, 나노솜은 반투명한 빛을 띠어 아주 미세하다는 것을 알 수 있었으며, 리포솜은 유백색을 띠는 것으로 보아 나노솜에 비하여 입자가 훨씬 크다는 것을 알 수 있었다. 위와 같은 최적 조건들로 설정하여 나노솜을 만들고 나노솜이 형성되었는지를 SEM 사진을 통하여 확인할 수 있었다. 나노솜에 대한 particle size는 57 ~ 75.7nm, 평균 입자 크기는 66nm로 아주 미세한 입자 크기를 형성됨을 알 수 있었다. MF에 3회 통과시킨 나노솜의 안정도를 zeta potential로 측정한 결과 23.8mV로 안정한 베지클이 형성 되었음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. A. D. Bangham, S. M. Johnson, M. W. Hill, and E.D. Kom, *Biochim Acta*, **233**, 820-829(1976).
2. S. Zheng and R. Beissinger, *J. Liposome Research*, **3(8)**, 575-588(1993).
3. 김인영, 김중희, 박성순, 서봉석, *대한화장품학회지*, **21-1**, 38-52(1995).
4. C. Kirby and G. Gregoriadis, *Biotechnology*, **2**, 979(1984).
5. D. M. Lidgate, R. C. Fu, and J. S. Fleitman, *Biopharmaceutics*, **2**, 28(1989).
6. A. Gabizon and P. D. Papahadjjo, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **85**, 6949, (1988).
7. J. F. Szoka, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **9**,

- 467-508(1980).
8. S. Zheng and R. Beissinger, *J. Liposome Research*, **3**(3), 575-588(1993).
9. D. Imbert and R. R. Wickett, *Cosmetics & Toiletries*, **110**, 32(1995).
10. S. Nacht, *Cosmetics & Toiletries*, **110**, 25(1995).
11. I. Y. Kim and S. B. Seok, *19th IFSCC*, **Oct.**, 056(1996).
12. I. Y. Kim, J. K. Son, S. I. Nam, and H. Kim, *20th IFSCC*, **Sep.**, 086(1998).