

인지질계 양쪽성 계면활성제 CDP-W 첨가가 리포솜 특성에 미치는 영향

이정민 · 임종주[†]

동국대학교 화공생물공학과
(2024년 4월 29일 접수, 2024년 5월 21일 수정, 2024년 5월 23일 채택)

Effect of Phospholipid Zwitterionic Surfactant CDP-W on the Characteristics of Liposome

Jeong Min Lee and Jong Choo Lim[†]

Department of Chemical and Biochemical Engineering, Dongguk University, Seoul 04620, Korea
(Received April 29, 2024; Revised May 21, 2024; Accepted May 23, 2024)

초 록

본 연구에서는 인지질계 양쪽성 계면활성제 CDP-W 첨가가 지질 소포체 막과의 상호 작용에 미치는 영향에 관하여 살펴보았다. 이를 위하여 CDP-W 양쪽성 계면활성제와 레시틴 S100-3의 임계 마이셀 농도 및 표면장력 등의 계면 물성을 측정하였다. 또한 pH 변화에 따른 1 wt% 계면활성제 수용액의 제타 전위 측정을 통하여 양쪽성 계면활성제 CDP-W가 양이온 계면활성제에서 음이온 계면활성제로 작용이 전환되는 등전점을 결정하였으며, 이 결과를 바탕으로 pH 변화 및 CDP-W 첨가가 리포솜의 평균 입자 크기, 다분산 지수 및 제타 전위 등과 같은 안정성에 미치는 영향에 살펴보았다. 또한 가장 안정한 상태의 리포솜이 형성되는 pH 6의 조건에서 CDP-W 첨가에 따른 리포솜 막의 형광 이방성, 변형성, 녹는 점 측정 등을 통하여 리포솜 막의 유동성 특성을 측정하고 리포솜 막의 유동성이 포집효율 및 안정성에 미치는 영향에 관하여 살펴보았다.

Abstract

In the present work, the interaction of lipid-based zwitterionic surfactant CDP-W with the vesicle membrane of phospholipids was investigated. For this purpose, interfacial properties such as critical micelle concentration (CMC) and surface tension were measured for the zwitterionic surfactant CDP-W and lecithin S100-3. The zeta potential of 1 wt% aqueous surfactant solutions was also measured as a function of pH to determine the iso-electric point of CDP-W surfactant, where the characteristic of CDP-W surfactant changes from a cationic surfactant to an anionic surfactant. Based on the iso-electric point measurement of CDP-W surfactant, the effects of pH change and CDP-W addition on the stability of S100-3 liposome systems were studied, such as average particle size, polydispersity index (PDI), and zeta potential. The effect of CDP-W on the fluidity characteristics of liposome membranes such as fluorescence anisotropy ratio, deformability, and melting point was investigated at pH 6 where the most stable liposomes were prepared to understand the effect of the fluidity of the liposome membrane on the encapsulation efficiency of active materials and the stability of liposome systems.

Keywords: Liposome, Zwitterionic surfactant, Stability, Encapsulation efficiency, Packing fluidity

1. 서 론

인지질(phospholipid)은 생체 세포막의 약 60%를 차지하는 지질 성분으로 양친매성 성질 및 우수한 생체 적합성을 가지고 있다. 이러한 특성 때문에 인지질은 리포솜(liposome), 에멀전(emulsion), 라멜라(lamellar)와 같은 다양한 형태의 전달체(delivery vehicle)로 사용되어 왔다. 특히 리포솜은 주로 인지질로 이루어진 이중층의 소포체 형태

로 세포막과 구조가 유사하며, 약물의 빠른 흡수성 및 수용성 약물을 함께 사용할 수 있는 장점을 갖고 있기 때문에 약물 전달 활용이 가능하다[1-4]. 이러한 장점으로 인하여 리포솜은 화장품 산업에서 활성 성분(active component)의 포집(encapsulation), 식품 산업에서 효소 및 약물 전달체(drug delivery) 등으로 활용되어 왔으나 인지질의 낮은 용해도 및 안정성(stability)으로 인하여 실제 응용에는 많은 한계점을 가지고 있다[1-4].

따라서 인지질의 낮은 용해도 및 안정성 문제를 개선하기 위한 다양한 연구들이 진행되어 왔으며, 대표적인 방법으로는 콜레스테롤과 같은 생체 고분자 혹은 염(salt)을 리포솜의 이중층(bilayer) 구조에 첨가하는 방법 등이 많이 사용되었다[5-8]. 콜레스테롤을 리포솜에 첨가하면 리포솜 크기가 감소하며, 또한 리포솜 막(membrane)의 유동성

[†] Corresponding Author: Dongguk University
Department of Chemical and Biochemical Engineering, Seoul 04620, Korea
Tel: +82-2-2260-3707 e-mail: jongchoo@dongguk.edu

(fluidity)이 감소하여 리포솜의 안정성은 증가하지만 포집하려는 활성 물질의 포집 효율(encapsulation efficiency)이 감소하는 단점을 가지고 있다[5-7]. 한편 리포솜의 안정성과 포집 효율을 증가시키기 위하여 염을 첨가하는 경우, 리포솜 내에 포집된 물질이 변질되는 단점을 가지고 있다[8,9]. 이외에도 리포솜을 제조한 후 동결 건조, 분무 건조, 분무 동결 건조 등의 후처리를 통하여 리포솜의 안정도를 높이는 방법이 사용되고 있으나 이러한 후처리 방식의 경우, 건조 후 다시 물에 분산시키는 과정에서 리포솜의 이중층 막이 파괴되는 문제를 가지고 있다[8].

계면활성제(surfactant)는 한 분자 내에 친수기와 소수기를 동시에 가진 양친매성 물질로 가용화력(solubilization capacity), 유화력(emulsification power), 침투력(penetration ability) 등의 특성을 가지고 있어서 섬유, 자동차, 페인트, 금속, 의약, 화장품, 생활용품 등 다양한 분야에서 사용되고 있다. 계면활성제는 친수기의 대전성 유무에 의하여 이온 계면활성제(ionic surfactant)와 비이온 계면활성제(nonionic surfactant)로 분류되며, 이온 계면활성제는 음전하를 띠고 있는 음이온 계면활성제(anionic surfactant), 양전하를 띠고 있는 양이온 계면활성제(cationic surfactant) 그리고 pH 조건에 따라 음전하 또는 양전하를 띠는 양쪽성 계면활성제(zwitterionic 혹은 amphoteric surfactant)로 구별된다[1,9-11]. 특히 양쪽성 계면활성제는 눈, 피부, 점막에 대하여 자극성이 낮고, 독성이 적으며 생분해도가 우수한 장점을 갖고 있다. 또한 양쪽성 계면활성제는 강산, 강염기의 극한 조건에서도 매우 안정하여 화장품, 샴푸 등의 생활용품과 같은 제품에서 널리 적용되고 있으며, 이러한 장점들로 인하여 매년 사용량이 급격히 증가하고 있다[11-15].

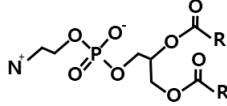
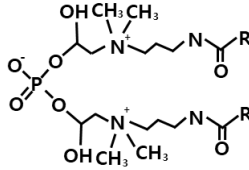
본 연구에서는 코코넛 오일을 원료로 합성한 인지질계 양쪽성 계면활성제 CDP-W 첨가가 리포솜의 포집 효율과 안정성에 미치는 영향에 관하여 살펴보았다. 이를 위하여 양쪽성 계면활성제 CDP-W 첨가에 따른 CDP-W와 리포솜의 결합 정도(degree of binding), 리포솜 막의 비등방성 비율(anisotropy ratio), 변형성(deformability) 등의 측정을 통하여 리포솜 막의 유동성 변화에 미치는 영향을 살펴보았다. 특히 본 연구에서 사용한 양쪽성 계면활성제 CDP-W는 경구 및 피부와 눈에 대한 자극성이 없으며, 생분해성이 우수한 환경친화적 계면활성제로서 방부력과 살균력을 동시에 갖고 있는 것이 이전의 연구를 통하여 밝혀졌다[16].

2. 실험

2.1. 실험재료

리포솜 제조에 사용한 탄화수소계 계면활성제 CDP-W는 ㈜에경계미칼에서 합성하여 제공하였으며[16], 특별한 정제 과정 없이 그대로 사용하였다. 레시틴은 Lipoid사의 S100-3을 사용하였으며, S100-3은 phosphatidylcholine (PC) 95%와 phosphatidylinositol (PI) 및 phosphatidic acid (PA)가 5% 혼합되어 있는 제품으로서 본 연구에서 사용한 레시틴 S100-3과 양쪽성 계면활성제 CDP-W의 분자 구조 및 분자식 등을 Table 1에 정리하여 나타내었다. 리포솜은 증류 및 이온 교환 장치를 거친 소순수 증류수를 사용하여 제조하였으며, 리포솜과 결합한 계면활성제 농도 측정에 사용한 cibacron brilliant red 3B-A과 포집 효율 측정을 위해 사용한 Sephadex G-50 충전제는 시그마-알드리치로부터 구입하여 별다른 정제 과정 없이 그대로 사용하였다. 수용성 활성 물질로 사용한 주목 배지는 주목 나무에서 추출한 액체 배지로서 ㈜운하에서 제공받아 특별한 정제 과정 없이 그대로 사용하였으며,

Table 1. Summary of Physical Properties of Surfactants Used During This Study

Surfactant	Molecular structure	Type	Molecular weight (g/mol)	pH
S100-3		Lecithin	790	6.29
CDP-W		Surfactant	826.1	6.36

소수성 활성 물질로 사용한 커큐민(curcumin)은 시그마-알드리치로부터 구입하여 별다른 정제 과정 없이 그대로 사용하였다. 리포솜 막의 유동성 측정을 위하여 사용한 diphenylhydantoin (DPH), tetrahydrofolic acid (THF)는 시그마-알드리치로부터 구입하여 별다른 정제 과정 없이 그대로 사용하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 계면 특성 측정

Du Noüy 장력측정계(Kruss Sigma 702, Germany)를 사용하여 표면장력을 측정하였으며, 동일 시료에 대하여 각각 2회 측정하여 그 평균값으로 표면장력 측정치를 나타내었다. 계면활성제와 레시틴의 임계마이크셀 농도(critical micelle concentration, CMC)는 계면활성제 및 레시틴 농도 변화에 따른 표면장력 측정으로부터 표면장력이 더 이상 감소하지 않고 일정하게 되는 농도를 계면활성제 및 레시틴 각각의 CMC로 고려하여 결정하였다.

계면활성제의 유화력(emulsifying power)을 측정하기 위하여 1 wt% 계면활성제 수용액 7.5 mL와 헥사데칸 7.5 mL를 유리 시험관에 넣은 후 와류 믹서를 이용해 5 min 동안 교반하여 에멀전을 제조하였다. 제조한 에멀전을 30 °C 항온조에서 24 h 동안 유지한 후, 전체 높이와 에멀전 부분의 높이를 측정하여 다음 식 (1)을 사용하여 유화지수(emulsification index, EI)를 구하였다[15,16].

$$EI_{24} = [(24 \text{ h 후 유화된 오일 높이}) / (\text{시료의 전체 높이})] \times 100 \quad (1)$$

계면활성제 수용액의 기포 생성력(foaming ability)과 기포 안정성(foam stability) 평가는 FoamScan (IFAC, 독일)을 사용하였다. 이를 위하여 1 wt% 계면활성제 수용액 8 mL를 FoamScan과 연결되어 있는 유리관에 주입한 후, 질소 가스를 이용하여 160 cm³까지 거품을 생성시키는데 소요되는 시간으로부터 기포 생성력을 측정하였으며, 생성된 기포가 1500 s 동안 소멸한 기포 부피 감소율로부터 기포 안정성을 평가하였다[15,16].

양쪽성 계면활성제 CDP-W의 제타 포텐셜은 일본 OTSUKA사의 ELS-8000을 사용하여 측정하였으며, 양쪽성 계면활성제 CDP-W의 등전점(isoelectric point)는 1 wt% 계면활성제 수용액의 pH에 따른

제타 포텐셜 값을 측정하여 제타 포텐셜이 0이 되는 값으로부터 결정하였다[17]. 25 °C에서의 계면활성제 및 레시틴 수용액의 안정성은 5 wt% 수용액을 시험관에 넣고 초기와 100 h 후에 시료 윗부분과 아랫부분의 전기 전도도를 각각 측정하여 평가하였다[15-17].

2.2.2. 리포솜 제조

50 mg의 레시틴 S100-3에 CDP-W를 다양한 몰 비율에 따라 첨가한 후 90 °C의 증류수 10 mL에 수화시켰다. 이후 와류 믹서(voltex mixer)로 5 min 동안 교반 후 초음파 분쇄기(VIBRACELL, USA)를 이용하여 15 min 동안 혼합물을 분산시켜 리포솜을 제조하였다. 제조한 리포솜은 25 °C의 항온조(BOD Incubator DF-95B, Korea)에 넣어 보관하였으며, 제조된 리포솜의 시간에 따른 입자 크기 및 다분산 지수(polydispersity index, PDI)는 입도분석기(Scatteroscope I, Korea)를 사용하여 측정하였다. 입자의 다분산 정도를 나타내는 PDI 값은 0.25 보다 작은 경우, 안정한 상태의 단분산(monodisperse)에 가까운 입자 분포를 갖는 것으로 알려져 있다[18].

2.2.3. 리포솜 막의 유동성(fluidity) 측정

첨가한 계면활성제가 리포솜과 결합(binding)한 양을 결정하기 위하여 겔 여과 크로마토그래피(gel permeation chromatography)와 비색 정량법(colorimetric determination)을 사용하였다. 겔 여과 크로마토그래피 실험에서는 세파덱스 겔(Sephadex gel G-50)을 사용하여 리포솜을 포함한 용액과 포함하지 않은 용액으로 분리한 후 겔 여과 크로마토그래피를 통해 분리한 용액 0.3 mL와 cibacron brilliant red 3B-A 0.0075 wt% 용액 3 mL를 혼합한 후 혼합한 용액을 30 °C 항온조에서 5 min 동안 보관한 후 UV Visible 분광광도계(CARY 100 Conc, Korea)를 이용하여 파장 575 nm에서의 흡광도 값을 측정하여 농도를 결정하였다[16].

리포솜 이중층 내에서의 소수기 알킬 사슬의 배열(ordering)과 유동성을 평가하기 위하여 형광 이방성(fluorescence anisotropy) 측정 실험을 수행하였다. DPH를 소수성(hydrophobic) 프로브(probe)로 사용하여 측정을 수행하였으며, DPH를 THF에 넣어 1.37 g/L의 농도로 제조한 후 상온에서 이 용액 50 µL와 리포솜 현탁액(suspension) 3 mL를 함께 섞어 2 h 동안 교반한 다음 분광 광도계(luminescence spectrometer) LS 50B (PerkinElmer, USA)를 이용하여 430 nm의 방출(emission) 파장에서 형광 강도를 측정하였다. 리포솜의 유동성을 나타내는 비등방성 비율(anisotropy ratio) r 값은 다음 식 (2)를 이용하여 구하였다[19-21].

$$r = \frac{I_{VV} - I_{HV}}{I_{VV} + 2I_{HV}} \quad (2)$$

여기서 I_{VV} 는 가진(excitation) 방향에서 평행한 방향으로 편광판(polarizer)을 통과하여 검출된 빛의 형광 강도(fluorescence intensities)이며, I_{HV} 는 수직인 방향으로 통과하여 검출된 빛의 형광 강도를 나타낸다[19-21]. 리포솜의 유동성을 나타내는 비등방성 비율 r 값은 작을수록 리포솜 막의 유동성이 크다는 것을 나타낸다.

CDP-W 첨가에 따른 리포솜 막의 유동성 변화를 평가하기 위하여 Amicon stirred cell (Millipore model 8050, USA)을 사용하여 압출(extrusion)법으로 변형성(deformability)을 나타내는 D (mL/min) 값을 측정하였다. 실험에 사용한 막 필터로는 제조된 리포솜 크기보다 기

공 크기가 작은 50 nm의 폴리카보네이트(polycarbonate) 막 필터 페이지퍼(Whatman Nuclepore track-etched membranes, UK)를 사용하였다. Amicon stirred cell에 필터 페이지퍼를 끼우고 리포솜 현탁액을 넣은 후, 여기에 4.5 bar의 일정한 압력을 가해 실험을 진행하여 10 min 동안 막 필터를 통과한 리포솜 용액의 부피를 측정한 후 다음의 식 (3)을 이용하여 deformability D 를 구하였다[21,22].

$$D = j \times \left(\frac{r_v}{r_p} \right)^2 \quad (3)$$

여기서, j 는 일정 시간 동안 투과성 막을 통과한 리포솜의 양 (mL/min), r_v 는 필터를 통과한 리포솜의 크기(nm), 그리고 r_p 는 사용한 막의 기공 크기(nm)이며, D 의 값이 클수록 리포솜 막의 유동성이 작다는 것을 나타낸다[16,21,22].

양쪽성 계면활성제 CDP-W 첨가에 따른 리포솜 막의 유동성 변화를 평가하기 위하여 리포솜 시스템의 녹는 점(melting point, T_m) 측정 실험을 수행하였다. 제조한 리포솜을 85 °C 오븐에서 70 min 동안 건조시킨 후 시차 주사 열량계(Q10 V9.4 Build 287DSC, USA)를 이용해 분석을 진행하였다. 분석 조건은 10 °C/min로 설정하여 -40 °C에서 200 °C 사이의 온도 영역에서 녹는 점 T_m 을 측정하였으며, T_m 이 높을수록 리포솜 막의 유동성이 감소하였음을 나타낸다[23,24].

2.2.4. 소수성 및 친수성 활성 성분 포집 효율 측정

친수성 물질인 주목 배지 포집 실험은 원하는 몰 비율의 CDP-W를 50 mg의 레시틴 Lipoid S100-3에 첨가한 후 90 °C의 증류수 7 mL와 주목 배지 3 mL에 수화시켜 수행하였다. 이후 와류 믹서로 5 min 동안 교반한 후 초음파 분쇄기를 이용하여 15 min 동안 혼합물을 분산시켜 리포솜을 제조한 후 25 °C 항온조에 넣어 보관하였다[19].

소수성 물질 커큐민을 포집 실험은 원하는 몰 비율의 CDP-W와 50 mg의 레시틴 Lipoid S100-3을 혼합한 후 이 혼합물에 커큐민 10 mg을 첨가하여 수행하였다. 커큐민이 포함된 혼합물을 다시 에탄올 10 g에 수화시킨 후, 회전증발농축기 (BÜCHI Rotavapor R-124, Switzerland)를 이용해 30 min 동안 건조한 후 90 °C 증류수 10 mL에 수화시켰다. 이후 와류 믹서로 5 min 동안 교반한 후 초음파 분쇄기를 이용하여 15 min 동안 혼합물을 분산시켜 리포솜을 제조한 후 25 °C 항온조에 넣어 보관하였다.

친수성 물질 주목 배지와 소수성 물질 커큐민의 동시 포집 실험은 원하는 다양한 몰 비율의 CDP-W와 50 mg의 레시틴 Lipoid S100-3을 혼합한 후 커큐민 10 mg을 첨가하여 수행하였다. 커큐민이 포함된 혼합물을 다시 에탄올 10 g에 수화시킨 후, 회전증발농축기를 이용하여 건조하였다. 이후 90 °C 증류수 7 mL와 주목배지 3 mL를 넣어 수화시킨 후 와류 믹서로 5 min 동안 교반한 다음 초음파 분쇄기를 이용하여 15 min 동안 혼합물을 분산시켜 리포솜을 제조한 후 25 °C 항온조에 넣어 보관하였다.

제조한 리포솜에 수용성 물질 주목 배지와 소수성 활성 물질 커큐민이 포집된 양을 결정하기 위하여 겔 여과 크로마토그래피 방법을 사용하였다. 겔 여과 크로마토그래피를 통해 분리한 용액을 UV Visible 분광광도계를 이용하여 주목 배지의 경우 파장 270 nm에서 커큐민의 경우 425 nm에서 흡광도 값을 측정한 후 표준 곡선(standard curve)를 이용하여 측정한 흡광도 값으로부터 포집 효율을 결정하였다.

Table 2. Summary of Interfacial Properties of Surfactants Used During This Study

Surfactant	CMC (wt%)	γ_{CMC}^a (mN/m)	Emulsification index ^b (%)	Foaming ability ^c (s)	Foam stability ^d (%)	Isoelectric point	Solution stability ^e (μ S/cm)	
							Top	Bottom
CDP-W	1.39×10^{-2}	31.83	54.54	137	0.00	4.92	2820	2810
S100-3	4.81×10^{-1}	49.87	2.61	0	N. D. ^f	N. D. ^f	28	27

^a Surface tension measured at CMC

^b Percentage of emulsion height with 1 wt% surfactant solution and n-hexadecane after 24 h

^c Time for foam volume to increase up to 160 cm³ where initial foam was generated with 1 wt% surfactant solution

^d Percentage of foam volume decrease during 1500 s, initially generated with 1 wt% surfactant concentration

^e Stability of 5 wt% surfactant solution determined by measuring the conductivity at upper fill height and at the bottom of the sample 100 h after preparation of the sample

^f Not determined

3. 결과 및 고찰

3.1. 계면 물성 측정

CDP-W와 S100-3 수용액의 농도 변화에 따른 표면장력 측정 결과를 요약하여 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 볼 수 있듯이 CDP-W와 S100-3의 CMC는 각각 4.81×10^{-1} g/mol, 1.39×10^{-2} g/mol이며, CMC에서의 표면장력은 각각 31.83 mN/m과 49.87 mN/m로서 S100-3의 표면장력이 더 높은 것을 확인하였다. 25 °C 온도 조건에서 CDP-W 및 S100-3 수용액 시스템에 대한 유흥력은 헥사데칸과 같은 부피의 1 wt% 수용액을 유흥 믹서를 사용하여 5 min 동안 각각 혼합한 후 24 h 후 에멀전 높이를 측정하는 방법으로 진행하였으며, 식 (1)을 이용하여 결정된 유흥 지수 EI를 Table 2에 정리하여 나타내었다. Table 2의 결과에서 볼 수 있듯이 CDP-W 및 S100-3의 유흥 지수는 각각 54.54% 및 2.61%로 CDP-W의 유흥력이 S100-3과 비교하여 매우 우수함을 알 수 있다. 또한 5 wt% 농도의 CDP-W와 S100-3 수용액에 대한 전기전도도 측정을 통하여 수용액 안정성을 평가한 결과, CDP-W와 S100-3 수용액 모두 안정하다는 것을 확인할 수 있었다 [25,26].

25 °C 온도 조건에서 Foamsan을 이용하여 CDP-W 및 S100-3 수용액에 대한 기포 생성력 및 안정성을 각각 측정하였으며, 그 결과를 Table 2에 나타내었다. Table 2에 나타난 결과에서 볼 수 있듯이 CDP-W 수용액 시스템에서 160 cm³ 부피의 기포를 생성하는데 137 s가 소요되었으며, 반면에 S100-3 수용액 시스템에서는 기포가 형성되지 않음을 알 수 있다. 또한 1 wt% CDP-W 수용액 시스템에서 초기 생성된 기포의 부피 기준 1,500 s 동안 감소한 기포의 부피 퍼센트로 나타난 기포 안정성은 0%로 형성된 기포가 소멸되지 않고 안정한 상태를 유지함을 알 수 있다.

양쪽성 계면활성제는 등전점 이하의 pH 조건에서는 양이온 계면활성제로 작용하며, 등전점 이상의 pH 조건에서는 음이온 계면활성제로 작용한다. 따라서 본 실험에서는 용액의 pH 조건에 따른 CDP-W의 제타 전위를 측정하여 등전점을 결정하였으며, CDP-W의 등전점은 4.92임을 알 수 있었다.

3.2. 입자크기 측정 및 안정도 확인

레시틴 대비 다양한 몰 비율로 CDP-W를 첨가하여 리포솜을 제조한 후, 리포솜의 평균 입자 크기와 PDI를 측정하였다. CDP-W의 등전점 측정 결과에 따라, 등전점 이하인 pH 3, 등전점 이상 조건에 해당하는 pH 6과 pH 10의 조건에서 실험을 진행하였으며, 그 결과를 Table 3에 정리하여 나타내었다. Table 3의 결과에서 볼 수 있듯이

CDP-W의 등전점보다 낮은 pH 3의 조건에서는 CDP-W의 첨가량 증가에 따라 리포솜 입자의 초기 평균 크기는 감소하다가 다시 증가하였다. 예를 들어, 레시틴 몰 대비 CDP-W를 각각 0.25, 0.50 및 0.75로 증가시키기에 따라 리포솜 입자의 초기 평균 크기는 각각 118 ± 3.92 nm, 97.3 ± 1.63 nm 및 93.2 ± 1.28 nm로서 감소하였다. 레시틴 몰 대비 CDP-W를 몰 대비 0.75만큼 첨가한 조건에서 가장 작은 크기를 나타낸 후 이후 CDP-W의 첨가량 증가에 따라 리포솜 입자의 초기 평균 크기는 증가하였다. 이는 pH 3의 조건 하에서는 양전하를 띠는 CDP-W 계면활성제를 첨가함에 따라 음전하를 띠고 있는 리포솜의 표면 전하가 중화(surface charge neutralization)되어 음전하를 띠는 리포솜 친수기 부분과 양전하를 띠는 계면활성제 친수기 사이의 정전기적 인력(electrostatic attraction)에 의한 상호작용이 증가하여 리포솜의 입자 크기는 감소하게 된다. 하지만 양전하를 띠는 CDP-W 계면활성제를 일정량 이상 첨가하게 되면 리포솜의 표면 전하 역전(surface charge reversal) 현상에 의하여 리포솜 친수기 부분과 계면활성제 친수기 사이의 정전기적 인력(electrostatic repulsion)이 감소하여 리포솜의 입자 크기는 증가하게 된다. pH 3의 조건 하에서 CDP-W 양쪽성 계면활성제 첨가에 따른 리포솜의 입자 크기 변화는 Table 4에 정리하여 나타난 제타 전위 측정 결과와 동일한 경향을 나타내는 것을 알 수 있으며, 이러한 결과는 다양한 사슬 길이의 아민 옥사이드 양쪽성 계면활성제를 레시틴에 첨가하여 리포솜의 입자 크기를 측정된 이전 결과와 일치하였다[22]. 또한 Table 3에 나타난 리포솜 제조 초기와 제조 2달 및 6달 경과 후의 리포솜 평균 입자 크기와 PDI를 측정 결과에서 볼 수 있듯이 리포솜 제조 2달이 경과한 경우, CDP-W를 첨가하지 않고 제조한 리포솜의 경우에는 응집이 발생하였다. 또한 pH 3의 조건에서는 레시틴 대비 CDP-W를 몰 비율 기준 0.25 및 0.50 만큼 각각 첨가하여 제조한 리포솜을 제외한 나머지 시스템에서는 모두 응집이 일어났다.

Table 3의 결과에서 볼 수 있듯이 CDP-W의 등전점보다 높은 조건에 해당하는 pH 6과 pH 10의 조건에서는 CDP-W 첨가량의 증가에 따라 리포솜 입자의 초기 평균 크기는 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 음전하를 띠는 CDP-W 계면활성제 첨가에 따라 입자 사이의 정전기적 반발력이 증가하여 리포솜의 입자 크기가 감소하게 된 것으로 생각되며, 이러한 결과는 다양한 사슬 길이의 아민 옥사이드 양쪽성 계면활성제를 레시틴에 첨가하여 리포솜의 입자 크기를 측정된 이전 결과와 일치하였다[22]. Table 3에 나타난 리포솜 제조 초기와 제조 2달 및 6달 경과 후의 리포솜 평균 입자 크기와 PDI를 측정 결과에서 볼 수 있듯이 리포솜 제조 2달이 경과한 경우, CDP-W를 첨가하지 않고 제조한 리포솜의 경우에는 pH 6과 pH 10의 조건에

Table 3. Effect of CDP-W on Particle Size and Polydispersity Index (PDI) of the Liposomes Prepared with Various Molar Ratios of CDP-W to S100-3

CDP-W/S100-3 (Molar ratio)	Initial		After 2 months		After 6 months		
	Particle size (nm)	PDI	Particle size (nm)	PDI	Particle size (nm)	PDI	
pH 3	0	180 ± 1.23	0.183	Flocculation	Flocculation	Flocculation	Flocculation
	0.10	135.2 ± 1.29	0.215	142.3 ± 6.38	0.492	159.2 ± 3.19	0.621
	0.25	118 ± 3.92	0.193	137.1 ± 5.72	0.392	142.3 ± 4.92	0.523
	0.50	97.3 ± 1.63	0.198	124.8 ± 4.28	0.329	131.8 ± 4.86	0.520
	0.75	93.2 ± 1.28	0.208	112.6 ± 5.92	0.472	Flocculation	Flocculation
	1.00	95.0 ± 1.18	0.185	126.1 ± 7.64	0.456	Flocculation	Flocculation
	1.50	101.6 ± 2.94	0.219	147.4 ± 8.92	0.512	Flocculation	Flocculation
	2.00	106.7 ± 2.56	0.197	151.5 ± 9.45	0.414	Flocculation	Flocculation
	4.00	126.8 ± 1.86	0.193	159.2 ± 7.82	0.492	Flocculation	Flocculation
	8.00	148.2 ± 6.82	0.210	162.3 ± 6.92	0.542	Flocculation	Flocculation
pH 6	0	178.3 ± 1.26	0.192	Flocculation	Flocculation	Flocculation	Flocculation
	0.10	137.3 ± 1.92	0.201	145.9 ± 5.27	0.334	162.9 ± 4.94	0.528
	0.25	121.6 ± 2.78	0.205	141.2 ± 4.72	0.224	148.7 ± 2.86	0.249
	0.50	113.9 ± 1.62	0.203	138.4 ± 2.91	0.236	142.7 ± 3.25	0.246
	0.75	107.8 ± 0.79	0.192	126.3 ± 3.21	0.323	135.2 ± 8.89	0.452
	1.00	92.6 ± 1.73	0.192	113.5 ± 4.03	0.483	129.3 ± 9.21	0.582
	1.50	89.3 ± 1.47	0.189	107.0 ± 5.23	0.582	118.0 ± 10.23	0.638
	2.00	84.7 ± 0.71	0.211	98.3 ± 4.31	0.518	Flocculation	Flocculation
	4.00	79.2 ± 1.67	0.204	87.3 ± 2.93	0.492	Flocculation	Flocculation
	8.00	75.8 ± 2.69	0.219	Flocculation	Flocculation	Flocculation	Flocculation
pH 10	0	182.1 ± 2.71	0.203	Flocculation	Flocculation	Flocculation	Flocculation
	0.10	241.2 ± 2.94	0.204	283.2 ± 7.92	0.492	Flocculation	Flocculation
	0.25	214.6 ± 1.79	0.193	263.1 ± 8.68	0.391	Flocculation	Flocculation
	0.50	173.4 ± 1.96	0.208	248.3 ± 8.12	0.418	Flocculation	Flocculation
	0.75	148.3 ± 1.39	0.196	231.2 ± 7.98	0.459	Flocculation	Flocculation
	1.00	134.7 ± 2.41	0.219	227.1 ± 6.62	0.529	Flocculation	Flocculation
	1.50	122.4 ± 1.85	0.207	216.5 ± 8.46	0.531	Flocculation	Flocculation
	2.00	113.2 ± 2.81	0.194	202.8 ± 9.83	0.548	Flocculation	Flocculation
	4.00	105.5 ± 1.92	0.204	Flocculation	Flocculation	Flocculation	Flocculation
	8.00	101.6 ± 2.12	0.205	Flocculation	Flocculation	Flocculation	Flocculation

Table 4. Effect of CDP-W on Zeta Potential and Surface Tension of the Liposomes Prepared with Various Molar Ratios of CDP-W to S100-3

CDP-W/S100-3 (Molar ratio)	Zeta potential (mV)			Surface tension (mN/m)		
	pH			pH		
	3	6	10	3	6	10
0	-50.55 ± 0.07	-55.33 ± 0.47	-55.58 ± 0.07	58.00 ± 0.02	57.26 ± 0.12	57.21 ± 0.02
0.10	-48.72 ± 1.18	-54.46 ± 0.24	-53.92 ± 2.18	51.92 ± 0.09	45.52 ± 0.13	45.29 ± 0.09
0.25	-45.82 ± 1.97	-53.57 ± 0.38	-52.93 ± 1.97	50.98 ± 0.08	43.63 ± 0.08	44.71 ± 0.08
0.50	-41.28 ± 1.12	-52.51 ± 1.87	-52.19 ± 1.12	49.29 ± 0.08	43.61 ± 0.08	44.38 ± 0.08
0.75	-37.29 ± 0.53	-52.01 ± 1.27	-51.52 ± 0.53	48.82 ± 0.02	42.09 ± 0.02	42.91 ± 0.02
1.00	-28.93 ± 0.79	-51.58 ± 0.57	-49.26 ± 0.79	48.19 ± 0.05	41.85 ± 0.05	41.89 ± 0.05
1.50	-16.82 ± 1.95	-47.92 ± 0.25	-47.29 ± 1.95	47.82 ± 0.09	41.58 ± 0.02	41.48 ± 0.08
2.00	-10.82 ± 0.14	-44.10 ± 1.23	-46.16 ± 0.14	47.59 ± 0.05	41.35 ± 0.05	41.23 ± 0.05
4.00	-4.92 ± 0.45	-40.18 ± 0.72	-43.29 ± 0.45	46.68 ± 0.01	41.16 ± 0.01	39.57 ± 0.01
8.00	5.02 ± 1.17	-38.51 ± 1.27	-41.82 ± 1.17	45.60 ± 0.01	38.38 ± 0.01	38.18 ± 0.01

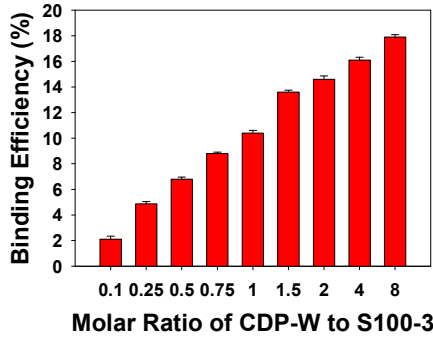


Figure 1. Effect of CDP-W on binding efficiency of surfactant onto the liposomes prepared with various molar ratios of CDP-W to S100-3 at pH 6.

서 모두 응집이 발생하였다. 또한 pH 10의 조건에서 제조한 리포솜 시스템에서는 CDP-W 첨가량에 관계없이 6달이 경과한 후 모두 응집이 일어났으며, 반면에 pH 6의 조건에서는 레시틴 대비 CDP-W를 몰 비율 1.50까지 첨가하여 제조한 리포솜 시료에서는 응집에 발생하지 않았으나 레시틴 대비 CDP-W를 몰 비율 2.00 이상 첨가하여 제조한 리포솜 시료에서는 모두 응집이 발생하였다.

CDP-W의 등전점 이하 조건에 해당하는 pH 3과 등전점 이상 조건에 해당하는 pH 6 및 10의 조건에서 다양한 레시틴 대비 몰 비율로 CDP-W를 첨가하여 리포솜 제조 실험을 진행한 결과, pH 6의 조건에서 평균 입자 크기가 작고 비교적 단분산에 가까운 안정한 상태의 리포솜 입자가 형성되는 것을 확인하였다. 특히 pH 6의 조건에서 레시틴 대비 첨가한 CDP-W의 몰 비율이 각각 0.25와 0.50인 조건에서 6개월 이상 안정한 상태의 리포솜 입자가 형성되는 것을 알 수 있었다. 따라서 리포솜을 이용한 소수성 물질과 친수성 물질의 포집 실험은 pH 6의 조건에서 진행하였다.

3.2. CDP-W 계면활성제 첨가에 따른 리포솜 막의 변화

6개월 이상 안정한 상태의 리포솜 입자가 형성되는 pH 6의 조건에서 첨가한 CDP-W 분자와 리포솜 분자 사이의 결합 효율(binding efficiency)을 측정하기 위하여 우선 겔여과 크로마토그래피를 이용하여 리포솜과 결합하지 않은 CDP-W 분자를 CDP-W와 결합한 리포솜으로부터 분리하였다. 이후 분리한 수용액 상의 리포솜과 결합하지 않은 CDP-W를 cibacron brilliant red 시료와 반응시킨 후 비색 정량법을 통하여 농도를 결정하였다[22]. CDP-W 분자와 리포솜 사이의 결합 효율은 리포솜 제조 시 첨가한 CDP-W 대비 실제 리포솜 입자와 결합한 CDP-W 분율로 정의하여 퍼센트로 산출하여 Figure 1에 나타내었다. Figure 1에 나타난 결과에서 볼 수 있듯이 레시틴 대비 CDP-W의 몰 비율이 증가할수록 리포솜과 결합한 CDP-W 분자 개수가 증가하는 것을 확인할 수 있다.

CDP-W 첨가가 리포솜 막 이중층 내의 소수기 알킬 사슬의 배열에 미치는 영향을 알아보기 위하여 pH 6의 조건에서 DPH를 소수성 프로브로 사용하여 형광 이방성 측정 실험을 통하여 비등방성 비율(anisotropy ratio) r 값을 측정하였다. 형광 이방성 측정 실험을 통하여 측정이 가능한 비등방성 비율 r 값은 리포솜 막 이중층 내의 소수기 알킬 사슬 움직임과 입체적 장애에 의한 영향을 받기 때문에 리포솜 막 내부의 유동성에 관한 정보를 제공하는 것으로 알려져 있으며, 리포솜 막 이중층의 유동성이 증가할수록 r 값은 감소하는 것으로 알려져 있다[19-21]. Figure 2에 나타난 결과에서 볼 수 있듯이 레시틴 대

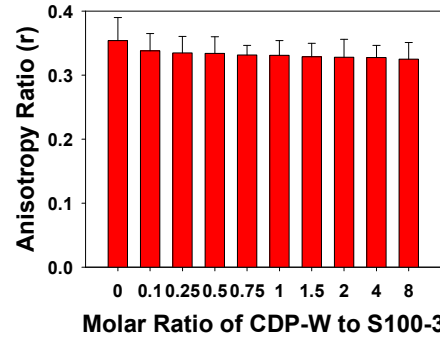


Figure 2. Effect of CDP-W on fluorescence anisotropy ratio (r) of the liposomes prepared with various molar ratios of CDP-W to S100-3 at pH 6.

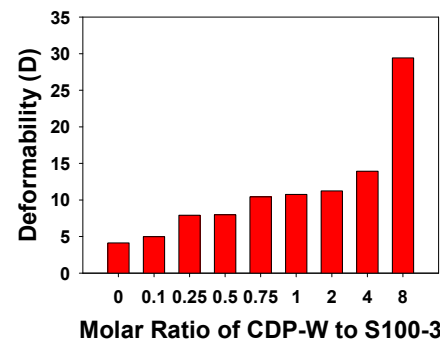


Figure 3. Effect of CDP-W on deformability (D) of the liposomes prepared with various molar ratios of CDP-W to S100-3 at pH 6.

비 첨가한 CDP-W의 몰 비율이 증가할수록 비등방성 비율 r 값은 감소하였으며, 이는 CDP-W 증가에 따라 리포솜 막 내부의 CDP-W 분자 개수가 증가하여 리포솜 막 이중층의 유동성을 증가시키는 것을 알 수 있다.

또한 CDP-W 첨가에 따른 리포솜 막의 유동성 변화를 평가하기 위하여 pH 6의 조건에서 압출법으로 변형성(deformability)을 나타내는 D (mL/min) 값을 측정하였으며, 그 결과를 Figure 3에 나타내었다. Figure 3에 나타난 결과에서 볼 수 있듯이 CDP-W 첨가량 증가에 따라 D 값은 증가하였는데, 이는 CDP-W 첨가에 따라 CDP-W 분자가 리포솜 막과 결합하여 리포솜 입자의 패킹(packaging)을 보다 유연하게 하여 리포솜 막의 유동성을 증가시킨다는 것을 의미하는 것으로[22], 압출법에 의한 변형성 지표 D 값 측정 결과는 형광 이방성 측정 결과와 동일한 경향을 나타냄을 알 수 있다.

양쪽성 계면활성제 CDP-W 첨가에 따른 리포솜 막의 유동성 변화를 평가하기 위하여 pH 6의 조건에서 리포솜 시스템의 녹는 점(T_m) 측정을 수행하였으며, 그 결과를 Figures 4에 나타내었다. Figures 4의 결과에서 볼 수 있듯이 레시틴 대비 CDP-W의 몰 비율이 증가할수록 T_m 값은 감소하는 것을 알 수 있다. 이는 CDP-W 첨가에 따라 리포솜 막 이중층의 유동성이 증가하여 분자 사이의 결합을 감소한 것을 의미한다[23,24].

Figures 2-4에 각각 나타낸 비등방성 비율 r 값, 변형성을 나타내는 D 값 및 리포솜 시스템의 녹는 점(T_m) 측정을 통하여 CDP-W를 첨가에 따라 리포솜 막의 유동성이 증가하는 것을 확인할 수 있는데, 이는 CDP-W와 레시틴 S100-3의 분자 구조 차이에 기인한 것으로 이해할 수 있다. Table 1에 나타낸 CDP-W의 구조를 보면 S100-3과 비교

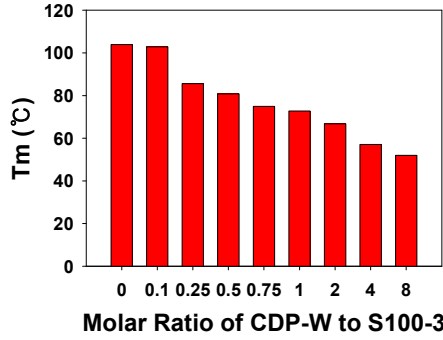


Figure 4. Effect of CDP-W on the melting point (T_m) of the liposomes prepared with various molar ratios of CDP-W to S100-3 at pH 6.

하여 친수성 헤드(head)의 부피는 더 크고 반면에 소수성 꼬리(tail) 탄화수소 사슬의 길이는 더 짧은 것을 알 수 있다. 즉, CDP-W가 첨가됨에 따라 리포솜 막 이중층 내의 친수성 헤드 부분의 부피가 증가하여 분자당 더 많은 공간을 차지하게 되며, 또한 꼬리 부분의 탄화수소 사슬이 짧아짐으로써 CDP-W와 S100-3 분자 사이의 소수성 상호작용(hydrophobic interaction)이 감소하여 분자 사이의 거리가 더 증가함에 따라 리포솜 막의 유동성이 증가하기 때문이다.

3.3. 포집효율 측정

레시틴 대비 다양한 몰 비율로 CDP-W를 첨가하여 제조한 리포솜의 활성 성분에 대한 포집 효율을 측정하기 위하여 친수성 물질로는 (주)운화에서 제공한 주목 배지를 사용하였으며, 소수성 물질로는 커큐민을 각각 사용하였다. 또한 CDP-W를 첨가하여 제조한 리포솜 시스템의 친수성 물질 및 소수성 물질에 대한 동시 포집 효율 측정 실험도 진행하였으며, 그 결과를 Table 5에 정리하여 나타내었다. Table 5에서 볼 수 있듯이 레시틴 대비 CDP-W 첨가량이 증가할수록 리포솜의 친수성 물질에 대한 포집 효율은 증가하였다. 예를 들어, CDP-W를 첨가하지 않고 제조한 리포솜의 주목 배지 포집 효율은 $26.80 \pm 0.28\%$ 이며, CDP-W의 몰 비율을 0.25, 0.50 및 0.75로 각각 증가시키면서 제조한 리포솜의 주목 배지에 대한 포집 효율은 각각 $31.85 \pm 0.31\%$, $33.15 \pm 0.24\%$ 및 $33.56 \pm 0.84\%$ 로 CDP-W 첨가량이 증가할수록 리포솜의 친수성 물질인 주목 배지에 대한 포집 효율은 증가하였다. 이는 레시틴 대비 CDP-W 계면활성제의 첨가량이 증가할수록

리포솜 이중층 막의 유동성이 증가함에 따라서 수용성 물질인 주목 배지가 리포솜 내부로 들어가기 용이해짐에 따라 포집 효율이 증가하기 때문이다.

Table 5에서 볼 수 있듯이 레시틴 대비 CDP-W 첨가량이 증가할수록 리포솜의 소수성 물질에 대한 포집 효율도 증가하였다. 예를 들어, CDP-W를 첨가하지 않고 제조한 리포솜의 커큐민 포집 효율은 $74.02 \pm 1.6\%$ 이며, CDP-W의 몰 비율을 0.25, 0.50 및 0.75로 각각 증가시키면서 제조한 리포솜의 커큐민에 대한 포집 효율은 각각 $79.82 \pm 1.24\%$, $80.67 \pm 1.45\%$ 및 $81.07 \pm 0.74\%$ 로 CDP-W 첨가량이 증가할수록 리포솜의 소수성 물질인 커큐민에 대한 포집 효율 역시 증가하였다. 이는 친수성 물질의 경우와 마찬가지로 CDP-W 계면활성제의 첨가량이 증가할수록 리포솜 이중층 막의 유동성이 증가하여 소수성 물질인 커큐민이 리포솜 이중층 막 내부로 들어가기 용이하기 때문이다. 또한 동일한 CDP-W를 첨가한 조건에서 리포솜의 소수성 물질에 대한 포집 효율이 친수성 물질과 비교하여 더 높은 것을 알 수 있다. 예를 들어, CDP-W의 몰 비율을 0.25 및 0.50로 각각 증가시키면서 제조한 리포솜의 커큐민에 대한 포집 효율은 각각 $79.82 \pm 1.24\%$ 와 $80.67 \pm 1.45\%$ 인 것과 비교하여 리포솜의 주목 배지에 대한 포집 효율은 각각 $31.85 \pm 0.31\%$ 와 $33.15 \pm 0.24\%$ 임을 알 수 있다. 이는 수용액 상에 존재하는 소수성 물질인 커큐민이 물과의 접촉을 피하기 위하여 우선적으로 소수성 분위기를 제공하는 리포솜 이중층 막 내부로 들어가기 때문이다.

리포솜의 친수성 물질 주목 배지와 소수성 물질 커큐민에 대한 동시 포집 가능성을 살펴보기 위하여 포집 효율을 측정 실험을 진행하였다. Table 5에 나타낸 결과에서 볼 수 있듯이 레시틴 대비 CDP-W 첨가량이 증가할수록 리포솜의 친수성 및 소수성 물질에 대한 동시 포집 효율도 증가하였다. 이러한 결과는 리포솜의 주목 배지와 커큐민을 각각 단독으로 포집한 경우의 포집 효율 측정 결과와 동일한 경향을 나타낸 것이며, 특히 리포솜의 친수성 및 소수성 물질에 대한 동시 포집 효율이 친수성 및 소수성 물질에 각각에 대한 포집 효율과 큰 차이가 없음을 알 수 있다. 예를 들어, 레시틴 대비 첨가한 CDP-W의 몰 비율이 0.25인 조건에서 제조한 리포솜의 주목 배지 및 커큐민 각각의 단독 물질에 대한 포집 효율은 각각 $31.85 \pm 0.31\%$ 및 $79.82 \pm 1.24\%$ 이며, 동일한 조건에서의 리포솜의 주목 배지 및 커큐민에 대한 동시 포집 효율은 각각 $28.67 \pm 1.29\%$ 와 $76.20 \pm 1.82\%$ 로 큰 차이가 없음을 알 수 있다. 이러한 결과는 양쪽성 계면활성제 CDP-W를 첨가하여 제조한 리포솜이 친수성 물질과 소수성 물질을 동시에 포집

Table 5. Effect of CDP-W on Encapsulation Efficiency of the Liposomes Prepared with Various Molar Ratios of CDP-W to S100-3 at pH 6

CDP-W/S100-3 (Molar Ratio)	Hydrophilic substance (%)	Hydrophobic substance (%)	Hydrophilic and hydrophobic substances (%)	
			Hydrophilic substance	Hydrophobic substance
0.00	26.80 ± 0.28	74.02 ± 1.62	24.16 ± 0.38	72.34 ± 1.79
0.10	29.81 ± 0.49	77.91 ± 1.15	26.91 ± 0.79	73.85 ± 0.59
0.25	31.85 ± 0.31	79.82 ± 1.24	28.67 ± 1.29	76.20 ± 1.82
0.50	33.15 ± 0.24	80.67 ± 1.45	30.79 ± 0.96	78.61 ± 0.14
0.75	33.56 ± 0.84	81.07 ± 0.74	31.18 ± 0.69	78.92 ± 1.27
1.00	35.05 ± 0.73	81.86 ± 0.98	32.05 ± 0.15	79.41 ± 0.92
1.50	39.10 ± 0.76	82.45 ± 1.46	33.79 ± 0.61	80.12 ± 0.41
2.00	40.03 ± 0.53	83.87 ± 1.47	34.91 ± 1.02	80.89 ± 0.56
4.00	41.53 ± 0.92	84.19 ± 1.79	36.66 ± 0.86	81.59 ± 0.61
8.00	42.98 ± 0.61	85.15 ± 1.24	38.01 ± 0.83	82.93 ± 1.27

할 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 레시틴에 CDP-W 계면활성제를 첨가하여 제조한 리포솜은 친수성 물질과 소수성 물질을 동시에 포집할 수 있으며, 특히 본 연구에서 사용한 CDP-W는 경구 및 피부와 눈에 대한 자극성이 없으며, 생분해성이 우수한 환경친화적 계면활성제로서 방부력과 살균력을 동시에 갖고 있으므로[16], 약물, 화장품 및 식품을 비롯한 다양한 산업 분야에서 전달체로 적용이 가능할 것으로 기대된다.

4. 결 론

본 연구에서는 양쪽성 계면활성제 CDP-W 첨가가 리포솜 특성에 미치는 영향에 관해 살펴보기 위하여 CDP-W의 등전점 이하인 pH 3, 등전점 이상 조건에 해당하는 pH 6과 pH 10의 조건에서 레시틴 대비 다양한 몰 비율로 CDP-W를 첨가하여 리포솜을 제조한 후, 리포솜 시스템의 평균 입자 크기 및 PDI, 제타 전위와 표면장력 등을 측정하였다. CDP-W의 등전점 이하인 pH 3의 조건에서는 CDP-W 첨가량 증가에 따라 리포솜 입자 크기는 감소하다가 다시 증가하였으며, 반면에 CDP-W의 등전점보다 높은 조건에 해당하는 pH 6과 pH 10의 조건에서는 CDP-W 첨가량 증가에 따라 리포솜 입자의 크기는 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 시간에 따른 리포솜 입자의 평균 크기 및 PDI를 측정한 결과, pH 6의 조건에서 평균 입자 크기가 가장 작고 비교적 단분산에 가까운 안정한 상태의 리포솜 입자가 형성되는 것을 확인하였다.

가장 안정한 리포솜 입자가 형성되는 pH 6의 조건에서 젤여과 크로마토그래피와 비색 정량법을 통하여 CDP-W 첨가량 증가에 따라 리포솜과 결합한 CDP-W 분자 개수는 증가함을 확인하였다. 또한 CDP-W 첨가가 리포솜 막 이중층의 유동성 변화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 pH 6의 조건에서 형광 이방성 측정 실험을 통한 비등방성 비율 측정, 압출법에 의한 변형성 측정과 리포솜 시스템의 녹는 점(Tm) 측정 실험을 각각 수행한 결과, 레시틴 대비 첨가한 CDP-W의 몰 비율이 증가할수록 리포솜 막 이중층의 유동성이 증가함을 알 수 있었다. 이는 CDP-W 첨가에 따라 리포솜 막 이중층 내의 친수성 헤드 부분의 부피가 증가하여 분자당 더 많은 공간을 차지하게 되며, 또한 꼬리 부분의 탄화수소 사슬이 짧아짐으로써 CDP-W와 S100-3 분자 사이의 소수성 상호작용(hydrophobic interaction)이 감소하여 리포솜 막의 유동성이 증가하기 때문이다.

가장 안정한 리포솜 입자가 형성되는 pH 6의 조건에서 수용성 활성 물질과 소수성 활성 물질로 주목 액체 배지와 커큐민을 각각 사용하여 리포솜의 포집 효율 실험을 수행한 결과, CDP-W 첨가량을 증가시키기에 따라 주목 액체 배지와 커큐민의 포집 효율이 모두 증가하였다. 또한 수용성 활성 물질과 소수성 활성 물질 동시 포집 효율 실험을 진행한 결과, CDP-W 첨가량을 증가시키기에 따라 주목 액체 배지와 커큐민의 포집 효율이 모두 증가하는 동일한 경향을 나타내었으며, 수용성 활성 물질과 소수성 활성 물질을 각각 단독으로 사용한 경우와 비교하여 포집 효율이 큰 차이가 없음을 확인하였다. 특히 레시틴 대비 첨가한 CDP-W의 몰 비율이 각각 0.25와 0.50인 조건에서 6개월 이상 안정한 상태의 리포솜 입자가 형성되는 것을 확인할 수 있었다.

감 사

본 연구는 산업통상자원부 소재부품기술개발-소재부품패키지형(과제번호 20011027, 반도체 디스플레이 공정용 불소계 계면활성제

제조기술 개발)의 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. A. D. Bangham, M. M. Standish, and J. C. Watkis, Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids, *J. Mol. Biol.*, **13**, 238-252 (1965).
2. J. Marcelino, J. L. F. C. Lima, S. Reis, and C. Matos, Assessing the effects of surfactants on the physical properties of liposome membranes, *Chem. Phys. Lipids*, **14**, 94-103 (2007).
3. P. M. Elias and D. S. Friend, The permeability barrier in mammalian epidermis, *J. Cell Biol.*, **65**, 180-191 (1975).
4. C. D. Stubbs, T. Kouyama, K. Kinoshita Jr., and A. Ikegami, Effect of double bonds on the dynamic properties of the hydrocarbon region of lecithin bilayers, *Biochemistry*, **20**, 4257-4262 (1981).
5. A. Gabizon, M. Chemla, D. Tzemach, A. T. Horowitz, and D. Goren, Liposome longevity and stability in circulation: Effects on the in vivo delivery to tumors and therapeutic efficacy of encapsulated anthracyclines, *J. Drug Target.*, **3**, 391-398 (1996).
6. M.-L. Briuglia, C. Rotella, and A. McFarlane, Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release, *Drug Deliv. Transl. Res.*, **5**, 231-242 (2015).
7. H. Farzaneh, M. E. Nik, M. Mashreghi, Z. Saberi, M. R. Jaafari, and M. Teymouri, A study on the role of cholesterol and phosphatidylcholine in various features of liposomal doxorubicin: From liposomal preparation to therapy, *Int. J. Pharm.*, **551**, 300-308 (2018).
8. J. Y. Yu, P. Chuesiang, G. H. Shin, and H. J. Park, Post-processing techniques for the improvement of liposome stability, *Pharm*, **13**, 1023 (2021).
9. C. Cowan-Ellsberry, S. Belanger, P. Dorn, S. Dyer, D. McAvoy, H. Sanderson, D. Versteeg, D. Ferrer, and K. Stanton, Environmental safety of the use of major surfactant classes in north america, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, **44**, 1893-1993 (2014).
10. P. R. Darapureddi and R. R. Nayak, Synthesis, surface properties and effect of an amino acid head group of 11-(2-methoxy-4-vinylphenoxy) undecanoic acid-based anionic surfactants, *J. Surfactants Deterg.*, **19**, 1133-1142 (2016).
11. C. Cowan-Ellsberry, S. Belanger, P. Dorn, S. Dyer, D. McAvoy, H. Sanderson, D. Versteeg, D. Ferrer, and K. Stanton, Environmental safety of the use of major surfactant classes in north america, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, **44**, 1893-1993 (2014).
12. J. S. Kim, J. S. Park, and J. C. Lim, Measurement of isoelectric point of amine oxide zwitterionic surfactant by QCM (quartz crystal microbalance), *J. Kor. Ind. Eng. Chem.*, **20**, 9-14 (2009).
13. J. S. Kim, J. S. Park, and J. C. Lim, Measurement of isoelectric point of betaine zwitterionic surfactant by QCM (quartz crystal microbalance), *Korean Chem. Eng. Res.*, **47**, 31-37 (2009).
14. J. C. Lim and D. S. Han, Synthesis of dialkylamidoamine oxide surfactant and characterization of its dual function of detergency and softness, *Colloids Surf. A*, **389**, 166-174 (2011).
15. J. C. Lim, J. S. Park, D. S. Han, J. S. Kim, S. Lee, D. H. Mo, and J. S. Lee, A study on isoelectric point and softness of an ethylene oxide adducted amphoteric surfactant, *Appl. Chem. Eng.*, **23**, 521-528 (2012).

16. K. H. Park, and J. C. Lim, Synthesis of phospholipid based zwitterionic surfactant from coconut oil source and characterization of their interfacial, antiseptic and antiviral properties, *J. Ind. Eng. Chem.*, **115**, 241-250 (2022).
17. A. Garg and S. Singh, Enhancement in antifungal activity of eugenol in immunosuppressed rats through lipid nanocarriers, *Colloid Surf. B*, **87**, 280-288 (2011).
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**, 91-98 (2005).
19. S. H. Park, S. G. Oh, K. D. Suh. Han, D. J. Chung, J. Y. Mun, S. S. Han, and J. W. Kim, Control over micro-fluidity of liposomal membranes by hybridizing metal nanoparticles, *Colloids Surf. B*, **70**, 108-113 (2009).
20. D. Yang, D. Pompattananangkul, T. Nakatsuji, M. Chan, D. Carson, C. M. Huang, and L. Zhang, The antimicrobial activity of liposomal lauric acids against *Propionibacterium acnes*, *Biomaterials*, **30**, 6035-6040 (2009).
21. J. S. Lee, G. Y. Chi, and J. C. Lim, Effect of fatty acid on the membrane fluidity of liposomes, *Appl. Chem. Eng.*, **28**, 177-185 (2016).
22. D. H. Mo, S. M. Lee, J. Y. Lee, D. S. Han, and J. C. Lim, Effect of amine oxide zwitterionic surfactant on characteristics of liposome, *Appl. Chem. Eng.*, **27**, 291-298 (2016).
23. J. K. Mills and D. Needham, Lysolipid incorporation in dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer membranes enhances the ion permeability and drug release rates at the membrane phase transition, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1716**, 77-96 (2005).
24. M. Schmid, C. Wölk, J. Giselbrecht, K. A. Chan, and R. D. Harvey, A combined FT-IR and DSC study on the bilayer-stabilizing effect of electrostatic interactions in ion paired lipids, *Colloids Surf. B*, **169**, 298-304 (2018).
25. J. C. Lim, M. C. Lee, T. K. Lim, and B. J. Kim, Synthesis of sorbital based nonionic surfactants and characterization of interfacial and adhesive properties for waterborne pressure sensitive adhesives, *Colloids Surf. A*, **446**, 80-89 (2014).
26. S. M. Lee, J. Y. Lee, H. P. Yu, and J. C. Lim, Synthesis of environment friendly nonionic surfactants from sugar base and characterization of interfacial properties for detergent application, *J. Ind. Eng. Chem.*, **38**, 157-166 (2016).

Authors

Jeong Min Lee; M.Sc., Graduate Student, Department of Chemical and Biochemical Engineering, Dongguk University, Seoul 04620, Korea; mini079411@naver.com

Jong Choo Lim; Ph.D., Professor, Department of Chemical and Biochemical Engineering, Dongguk University, Seoul 04620, Korea; jonchoo@dongguk.edu