

## 고분자 마이셀을 이용한 레티놀 제형개발: 레티놀 안정성

양희선\*\*\*\* · 안주영\*\*\*\*\* · 김채진\*\*\* · 구태성\* · 이은희\*\* · 육순홍\*\* · 이재휘\*\*\* · 신병철\*\*\*\* · 조선행\*\*\*\*\*†<sup>ID</sup>

\*충남대학교 신약전문대학원 신약개발학과, \*\*고려대학교 세종캠퍼스 일반대학원 약학과  
\*\*\*중앙대 약학대학 제약학과, \*\*\*\*한국화학연구원 신약기반기술연구센터  
(2020년 7월 27일 접수, 2020년 9월 30일 수정, 2020년 10월 9일 채택)

## Development of Retinol-loaded Polymeric Micelle: Stability of Retinol

Hee Seon Yang\*\*\*\*, Joo Young An\*\*\*\*\*, Chae Jin Kim\*\*\*, Tea-Sung Koo\*, Eun Hee Lee\*\*,  
Soon-Hong Yuk\*\*, Jae-Hwi Lee\*\*\*, Byung Cheol Shin\*\*\*\*, and Seon-Hang Cho\*\*\*\*\*†<sup>ID</sup>

\*Graduate School of New Drug Discovery and Development, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

\*\*College of Pharmacy, Korea University Sejong Campus, Sejong 30019, Korea

\*\*\*College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 06974, Korea

\*\*\*\*Drug-based Technology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 34114, Korea

(Received July 27, 2020; Revised September 30, 2020; Accepted October 9, 2020)

**초록:** 레티놀은 빛, 열 및 산소에 대해 불안정하다는 특징이 있어 레티놀에 대한 안정화 기술이 계속해서 요구되고 있다. 이러한 추세에 따라 안정성이 개선된 레티놀 폴리머 마이셀 연구를 수행하게 되었다. 레티놀 조성에 산화방지제를 함량별 첨가하였고 입도 측정, 장기 및 가속 안정성, 피부투과 등 실험을 진행하였다. 입자 크기는 산화방지제 함량에 따라 차이를 나타내었다. 이 중 레티놀과 butylated hydroxyanisole(BHA) 비율이 1:1인 M3 조성은 80.83% 및 81.18%의 장기 및 가속안정성을 나타내었다. 이 제형을 대상으로 피부투과 실험을 진행하였을 때, 대조군으로 사용된 S1보다 M3의 피부투과율(52.8%)이 더 크게 나타났다. 종합적으로 레티놀 안정성을 개선할 수 있는 산화방지제와 계면활성제의 적합한 비율을 확립하였다.

**Abstract:** Retinol is unstable to the external environment and its properties can deteriorate. Therefore, new stabilization techniques for retinol are needed. According to this trend, a lot of research to improve the stability of retinol is ongoing. Antioxidants were added to the core part of the retinol polymeric micelle particle by content. After preparing the retinol micelle formulation with antioxidants by content, experiments such as particle size measurement, long-term and accelerated stability test, and skin permeation were performed. The micelle particle size depended on the antioxidant ratio. The retinol proportion of M3 composition with a ratio of retinol to butylated hydroxyanisole (BHA) of 1:1 did not show any change in both long-term stability test (80.83%) and accelerated stability test (81.18%). Skin permeation experiments were performed on this formulation. As a result, the skin permeability of M3 (52.8%) was greater than that of S1 used as a control. As a comprehensive result, retinol stability was improved by establishing an appropriate ratio of antioxidants and surfactants.

**Keywords:** polymeric micelle, antioxidant, retinol, stability, nanoparticle.

## 서론

활성산소(reactive oxygen species)란 쌍을 이루지 못한 전자로 불안정한 상태인 산소분자를 말하며, 안정적인 상태로 돌아가려는 성질 때문에 주위의 세포들 또는 화합물과 쉽게

반응하여 전자를 얻거나 잃는 반응을 보인다. 인체에 활성산소가 많아지면 산화 억제물질을 분비시켜 활성산소를 제거하는 방어기전으로 세포 내에 항상성을 유지한다. 인체에 존재하는 산화 억제물질 분비가 줄어들면 산화적 스트레스가 커지게 된다.<sup>1</sup> 이때 단백질산화, 멜라닌생성반응 촉진, DNA 변성, 세포막파괴 등 외인성노화 또는 내인성노화가 유발된다.<sup>2</sup>

내인성노화는 사람의 인체에서 생기는 자연스러운 현상이다. 세포호흡을 통해 에너지를 생산하는 과정 중 생기는 부산물로 생성된 활성산소는 산화적 스트레스를 유발하여 DNA

†To whom correspondence should be addressed.  
shcho@kriict.re.kr, ORCID<sup>®</sup>0000-0003-4711-5967  
©2021 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

변성, 세포막파괴를 일으키고, 이는 암 발생, 동맥경화, 신경 퇴화, 세포노화까지 이어질 수 있다.<sup>3</sup> 항산화제 성분을 섭취하여 체내 방어시스템을 유지하면 내인성노화 억제에 도움이 된다. 외인성노화는 외부 자극에 의해 노화가 진행되는 것으로, 자외선(UVA, UVB)에 의해 피부가 자극을 받아 활성산소가 생성되는 것이 주요 요인이다. 외인성노화로 생겨난 활성산소는 단백질 또는 DNA 등의 세포분열에 영향을 주어 조직 손상 또는 콜라겐 생성 저하로 정상적인 세포재생이 이뤄지지 못하게 하여 피부에 영향을 준다. 외인성노화의 경우 항산화제 성분을 도포하여 표피의 면역기능을 담당하는 랑게르한스 세포(Langerhans cell)를 증가시켜 콜라겐과 엘라스틴 섬유가 파괴되는 것을 막아, 자외선으로 받은 손상을 회복할 수 있다.

레티놀(retinol)은 항산화 기능을 가진 원료로 노화방지 목적으로 사용되고 있다. 식약처에서 고시한 주름개선 기능성 화장품 원료로 2500 IU를 사용할 시 항산화기능이 있음이 인정되고 있다. 레티놀은 피부에 전달되었을 때, 외부로 받은 손상 회복 및 피부세포의 기능을 유지하는 중요한 역할을 한다.<sup>4</sup> 레티놀은 세포 내에 mRNA 증식을 유도하여 세포 분화를 활성화시켜 각화 주기를 정상화하고, 엘라스틴 합성을 촉진하여 세포재생 과정을 개선시켜 준다.<sup>5</sup> 피부에서 콜라겐 분해 속도는 매트릭스 메탈로 프로테아제(MMP)에 의해 증가하는데, MMP의 전사를 AP-1이 조절한다. 레티놀은 각질세포가 과다증식되는 것을 억제하며, 각질 세포의 유전자 발현을 조절하기 위해 activator protein1(AP-1)의 통로를 억제하기 때문에 여드름 치료제로도 쓰인다.<sup>6,7</sup> 그러나 레티놀은 물에 대한 용해도가 매우 낮고, 빛과 열에 불안정하여 안정성이 쉽게 떨어진다는 특징이 있어 사용할 때 이를 고려하여야 한다.<sup>8</sup>

난용성 물질은 물에 낮은 용해도로 인해 생체이용률이 떨어지고 이는 생리활성 저하로 이어진다. 가용화 기술을 이용해서 난용성 약물의 용해도를 높이면 생체이용률을 증대할 수 있다. 최근 난용성 약물을 소제화하기 위해서 나노/마이크로 에멀전의 제조 및 리포솜 미세캡슐화 기술이 개발되고 있다.

리포솜 전달체는 친유성 물질의 경우 리포솜 막과 결합하고,<sup>9</sup> 친수성 물질의 경우 리포솜의 내부 액상 core에 녹아 있는 형태로 구성된다. 이 경우 이중층 사이에 난용성 약물을 포집시킬 수 있어 약물전달시스템으로의 활용에 연구가 집중적으로 이루어지고 있다. 이 방법의 활용으로 레티놀의 안정성을 확보하기 위해 진행된 리포솜 전달체 연구는 많이 알려져 있다.<sup>10,11</sup> 그러나 열역학적으로 안정성을 유지하기 어렵다는 단점이 있다. 나노 입자크기를 형성하기 위해서는 Homogenizer를 이용하여 물리적인 힘을 주어야 한다.<sup>12</sup> 일반적으로 빛, 온도, pH 등의 자극이 있거나 제조시간이 길어지면 리포솜 내의 지질성 분해가 일어나는데, 이는 글리세롤과 지방산을 연결하는 에스테르 결합이 가수분해되어 발생한다. 40 °C 이상의 온도에서 주로 발생하는데, 상분리 또는 석출 등의 문제

가 생기기 때문에 단단하게 포집할 수 있는 담체에 대한 연구가 진행되어야 한다.<sup>13</sup>

이전 연구에서는, lipid-based carrier systems 기반으로 레티놀을 봉입한 콜로이드를 형성하여 운반체 역할을 수행할 수 있는지 확인하였다. 일부 한계가 극복되었으나, 레티놀의 안정성을 높이는 실험을 추가적으로 진행하였다.<sup>14,15</sup> 일반적인 리포솜은 가속안정성 시험 조건에서 30일 후 레티놀의 함량이 약 35%로 감소되는 등 불안정성을 나타내었다. 이를 개선하기 위해 리포솜 제형에 layered double hydroxide(LDH)를 첨가하여 복합체를 제조하였는데, 가속안정성 조건에서 30일 후 레티놀 함량은 80%였다. 이는 레티놀 안정성 향상을 위해 LDH를 첨가하여 리포솜으로 캡슐화함으로써 물리적으로 안정하게 제조되었다는 연구결과이다.<sup>16</sup> 리포솜 복합체를 형성하기 위한 시간적 소요가 필요하다는 단점이 있어, 레티놀 안정성을 극대화할 수 있는 가용화기술이 추가적으로 필요하다.<sup>17,18</sup>

저자들은 불안정한 레티놀을 전달하기 위해 물리·화학적 안정성을 높이는 방법으로 고분자 마이셀을 고안하였다.<sup>19,20</sup> 난용성 유효성분, 고분자 및 용해보조제를 첨가해 단순한 mixing으로 양친매성 고분자에 의해 내부의 소수성 영역에 레티놀이 봉입되었는지 예비 실험을 진행하여 확인하였다. 물리 화학적 특성에 대한 레티놀 안정성 평가를 입자크기, 다분산 지수(PDI), HPLC 분석 등을 통해 캡슐화로 인한 안정성을 확인하였으며, 안정성이 좋지 않다는 문제점을 보여주었다. 산화방지제를 첨가하여 오랜 시간 동안 레티놀의 성분이 산화되지 않게 안정성을 개선하는 것과 피부흡수가 용이하도록 제조하는 것이 본 연구의 목표이다.

레티놀의 단점인 난용성과 불안정성을 극복하고 경피투과율을 증대시켜 국소부위 치료제로 사용이 가능할 수 있도록 고분자 마이셀을 개발하고, 가용화기술을 접목하여 최적화된 약물 전달체로 활용하고자 한다.

이 연구는 세포증식 효과, 티로시나제 저해 효과 그리고 항산화 활성효과 등 여러 기능을 지닌 레티놀을 이용하여 외인적 요인 및 내인적 요인으로 손상된 피부를 개선시키는데 도움을 줄 것으로 기대된다.

## 실 험

**시약 및 재료.** 약물로 사용된 레티놀(Retinol 50C)과 마이셀 형성에 사용한 PEO-PPO-PEO 양친매성 Pluronic F127, 보조계면활성제로 사용한 Cremophor ELP는 바스프(BASF, Germany)에서 구매하여 사용하였으며, 난용성약물의 용해제로 사용한 트윈20(polysorbate, Tween20)은 준세이(Junsei Chem. Co., 일본)에서 구매하여 사용하였다. 산화방지제로 사용된 butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT)는 시그마(Sigma, USA)에서 구매하여 사용하였

다. 그 외에 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(Sigma,USA), Ascorbic acid(Sigma, USA), tyrosinase from mushroom (Sigma, USA), methylene blue(Sigma, USA), 1.5 mM L-tyrosine(Sigma, USA) 등이 사용되었다. 증류수(aqua max-ultra, Younglin instrument Co., Korea)는 탈이온수를 사용하였다.

#### DPPH Reactive Oxygen Species Scavenging Activities.

DPPH reactive oxygen species를 이용해서 레티놀의 항산화 능력을 확인하였다. 레티놀과 양성대조군 시료로 아스코르빅산을 사용하였다. 99.9%의 메탄올에 희석시킨 레티놀을 0.4, 1, 1.67, 4, 8 mg/mL의 농도가 되도록 제조하였고, 양성대조군 시료인 아스코르빅산 0.006, 0.013, 0.025, 0.05, 0.1 mg/mL의 농도로 제조하였다. 96-well plate를 준비하여 메탄올에 희석된 0.2 mM DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)용액을 150 µL와 각 시료액 50 µL씩 첨가한 후 실온 25 °C에서 30분간 반응시켰다. 라디칼 농도를 확인하기 위해 517 nm에서 Epoch2 microplate reader(BioTek Instruments Inc., USA)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 이 실험 결과를 GraphPad Prism 이용하여 DPPH 라디칼을 50% 저해하는 농도인  $IC_{50}$  값을 구하였다. 각 시료의 반응은 3번 측정하여 평균값을 산출하였다.

**In Vitro Tyrosinase Inhibition Assay.** 레티놀의 미백 효력을 확인하기 위해 *in vitro* tyrosinase inhibition assay를 참고하여 측정하였다.<sup>21,22</sup> 96-well plate에 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4) 220 µL, 1.5 mM L-tyrosine solution 40 µL가 혼합된 상태에서 2000 units mushroom tyrosinase 및 각 시료액을 20 µL를 첨가하였다. 37 °C에서 15분 동안 반응시키고 490 nm 파장에서 측정하였다. 이 실험 결과를 GraphPad Prism 이용하여 tyrosinase 활성을 50% 저해시키는 농도인  $IC_{50}$  값을 구하였다. 각 시료의 반응을 3번 측정하여 낸 평균값으로, 시료액 첨가와 무첨가의 흡광도 감소율로 산출하였다.

**오일 검색 및 용해도 측정.** 용해도 측정은 마이셀을 제조하기 위해 적절한 오일성분 용해제를 검색하고 레티놀과 오일을 첨가하여 가용화시험을 진행하였다. 오일 10 g에 중량비 20% 해당하는 레티놀의 양을 넣고 상온에서 48시간 동안 교반하였다. 레티놀 혼합물은 원심분리기(Universal 320; Herrich, Germany)를 이용하여 2000 rpm에서 원심분리한 뒤 상등액을 취하고 녹지 않은 레티놀을 멤브레인 필터(PVDF, 0.45 µm, Whatman, UK)로 여과하였다. 여과된 혼합물은 필터하기 전의 것과 무게를 비교하여 용해도를 확인하였다.

**적합성 실험.** 적합성 실험은 최적의 계면활성제 비율을 확인하고 마이셀을 제조하는데 필요한 용해제, 계면활성제, 보조계면활성제 및 레티놀과 혼용성을 확인하기 위하여 실행하였다. 레티놀에 대하여 가장 높은 용해도를 보였던 용해제를 선택하여 레티놀과 혼합한 상태에서 계면활성제 및 보조계면

**Table 1. Selected Formulation Through Various Tests**

Formulation code	Formulation	Antioxidant	
		BHA	BHT
	Retinol:Tween20:Pluronic F127: Cremophor ELP		
S1	(1 : 18 : 0 : 0)	-	-
M2	(1 : 18 : 18 : 18)	-	-
M3	(1 : 18 : 18 : 18)	1	-
M4	(1 : 18 : 18 : 18)	2	-
M5	(1 : 18 : 18 : 18)	3	-
M6	(1 : 24 : 18 : 18)	5	-
M7	(1 : 36 : 24 : 12)	10	-
M8	(1 : 18 : 18 : 18)	-	1
M9	(1 : 18 : 18 : 18)	-	2
M10	(1 : 18 : 18 : 18)	-	3
M11	(1 : 24 : 24 : 12)	-	5
M12	(1 : 36 : 24 : 18)	-	10

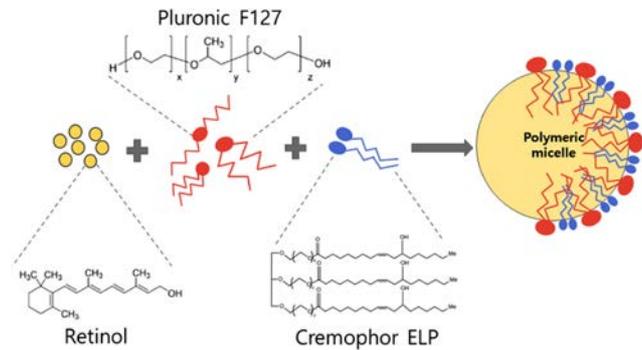
-: Not used.

활성제를 첨가하여 제조하였다.

각 성분의 가용성은 상온에서 7일 동안 방치 후 육안으로 상태를 관찰하고 성분 간의 혼용이 가능한지, 여부를 확인하였다. 용해제를 포함한 계면활성제 및 보조계면활성제를 최적의 비율은 Table 1에 나타내었다.

**레티놀의 고분자 마이셀 제조.** 난용성 약물을 가용화하기 위하여 오일 및 계면활성제, 그리고 약제학적으로 허용되는 용매를 검토하여 Tween20을 용해제로 사용하였다. 산화방지제로 BHA 및 BHT를 사용하였으며, 고분자 계면활성제는 Pluronic F127, 보조계면활성제는 Cremophor ELP를 사용하였다. Pluronic F127 함량을 높이면 젤화되어 수용화하기 어려운 점을 Cremophor ELP를 첨가하여 계면장력을 감소시키는 가용화제로 사용하였다.<sup>23,24</sup> 레티놀, 산화방지제, 용해제를 상온에서 완전히 용해한 후 계면활성제를 첨가와 동시에 50 °C에서 교반하였다. 모두 용해되어 투명한 액상으로 제조된 후 온도를 유지한 상태에서 보조계면활성제를 첨가한 다음 교반하였다. 물을 넣어 준 후 온도 없이 교반하여 제조하였다(Figure 1). 제조된 고분자 마이셀은 입도측정 및 함량 안정성, 경피 투과 실험 등 다양한 실험에 사용되었다.

**미세유화 측정 실험.** 수상이 오일상에 또는 오일상이 수상에 미세유화 되었을 때 열역학적으로 에너지 준위가 높기 때문에 물리적으로 불안정해질 수 있다. 분산상이 응집되어 큰 덩어리를 형성하거나 바닥에 침강하는 등의 증상이 나타나면 물질의 안정성을 손상시킬 수 있었기 때문에 제조한 각 조성의 투명한 정도와 분산상의 안정성을 확인하기 위해 실험을 진행하였다. 미세유화 여부는 수용성 염료인 메틸렌블루를 사



**Figure 1.** The process of encapsulating poorly soluble drugs using oil and surfactant.

용한 색소법(dye solubility method)을 이용하였다.

**입도 측정.** 레티놀의 안정성을 향상하기 위해 첨가된 산화방지제 butylated hydroxyanisole(BHA) 및 butylated hydroxytoluene(BHT) 함량에 따른 마이셀 입자크기와 입도 분포를 확인하였다. Zetasizer Nano(ZS90) 기기를 이용한 입자의 크기 측정 및 다분산 지수를 측정하기 위해 90도 산란각을 사용하였으며, 이 기술은 브라운 운동에 의해 움직이는 입자의 확산을 측정한다. 확인 간격은 1일, 30일 두 번이었으며, 전처리 과정 없이 수상 상태에서 입자크기를 측정하였다.

**안정성 평가.** 본 실험에서 제조한 레티놀 마이셀의 안정성을 평가하기 위하여 장기안정성(long-term test)을 진행하였으며 제조 후 25 °C 조건에서 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 18, 20, 24 주에 일정량을 취하여 HPLC 이동상에 희석하여 레티놀 함량을 분석하였다. 이와 동시에 가속안정성(accelerated test)도 진행하였으며 제조 후 40 °C 조건에서 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12주에 일정량을 취하여 장기안정성과 동일 방법으로 분석하였다.

**HPLC 분석조건.** 레티놀을 분석하기 위한 이동상 조건은 메탄올(methanol 99.9% HPLC grade B&J)을 사용하였으며, 멤브레인 필터 0.45 μm 크기를 사용하여 여과한 후 초음파분산기(powersonic 510, hwashin instrument Co., Ltd, Korea) 30분 이상 초음파 진탕 후 이동상으로 사용하였다. 컬럼은 Waters사의 C18 column(Waters, U.S.A)를 사용하였고, 컬럼 오븐 온도 30 °C에서 진행했으며 파장 325 nm, 유속 1.0 mL/min으로 분리하였다. HPLC 분석장비는 pump(Model 600; Waters, U.S.A), autosampler(Model 717 plus; Waters, U.S.A), UV detector(Model 486 Tunable Absorbance Detector; Waters, U.S.A)로 구성된 장비를 사용하였다.

**Cryo-SEM 측정.** 난용성 물질인 레티놀이 수상으로 인해 형성되는 마이셀 입자를 HPLC로 함량을 확인한 후, 조성 중에 안정적인 마이셀의 입자 형성 여부 확인을 위해 Quorum Technologies PP3000T Cryo-SEM sample preparation system 및 Tescan Mira 3 LMU FEG scanning electron microscope

(SEM)을 이용하여 형성된 입자를 관찰하였다.

**피부투과.** 피부투과는 Neoderm-ED(Tegoscience inc, Seoul, Korea)와 Strat-M Membrane(Tullagreen, Carrigtwohill, Co Cork ireland)을 사용하여 분석하였다. 멤브레인에 따른 투과도 차이를 알아보기 위해 두 가지 멤브레인을 사용하였으며, 고분자 계면활성제를 첨가한 M3 조성물 용해제에 용해된 레티놀을 수상에 분산시킨 S1 조성을 비교로 피부투과율을 측정하고자 Franz diffusion celle(H+P Labortechnik AG, Germany)을 이용하였다. Receptor chamber의 수용액으로는 PBS(pH7.4)를 12.5 mL 채우고, 각 샘플 1 mL씩 donor chamber의 멤브레인 표면에 도포 후 37±0.5 °C로 유지하면서 600 rpm으로 일정한 속도에서 교반하였다. 1, 2, 4, 8, 12, 24 시간 간격으로 일정량을 취하여 HPLC로 레티놀 함량을 분석하였다. 24시간 후 멤브레인에 남아있는 레티놀 잔류량을 확인하기 위해 멤브레인을 메탄올에 희석하여 초음파분쇄기(Hwashin, Hwashin instrument Co., Ltd, Korea)를 가한 뒤 레티놀 함량을 HPLC로 분석하였다.

## 결과 및 토론

### DPPH Reactive Oxygen Species Scavenging Activities.

레티놀은 식약처에서 2500 IU가 포함되어야 기능적인 면에서 효과를 인정받고 있다. 마이셀 내부에 2500 IU를 봉입하는 농도로 선정하였을 때 reactive oxygen species 소거활성을 나타내는 효과를 확인하기 위해 이 실험을 진행하였다. 양성대조군으로 아스코르빅산을 이용하여 레티놀과 DPPH reactive oxygen species 소거 활성반응으로 항산화 효력을 비교하였다. 아스코르빅산 0.006, 0.013, 0.025, 0.05, 0.1 mg/mL의 농도로 처리하였을 때 reactive oxygen species 소거활성은 12.9, 27.8, 55.0, 90.2, 93.0%의 항산화 효력을 보였고, 레티놀은 0.4, 1, 1.67, 4, 8 mg/mL 농도에서 reactive oxygen species 소거활성은 40.8, 66.8, 80.1, 95.8, 96.0%의 항산화 효력을 보였다(Figure 2). 레티놀의  $IC_{50}$  값은 0.875 mg/mL로 측정되었으며, 양성대조군으로 사용한 아스코르빅산의  $IC_{50}$  값은 0.024 mg/mL로 나타났다. 효능 결과를 종합해서 레티놀은 농도 의존적으로 reactive oxygen species 저해시킴을 확인하였다. 2500 IU 농도의 레티놀을 사용하였을 경우, 80.1±3.7%의 reactive oxygen species 소거활성을 나타내어 항산화 활성이 있는 원료로 활용이 가능한 소재라 판단되어 진다.<sup>25</sup>

**In Vitro Tyrosinase Inhibition Assay.** 마이셀 내부에 2500 IU를 봉입하는 농도로 선정하였을 때 tyrosinase 활성 억제제를 나타내는 효과를 보기 위해 이 실험을 진행하였다. 양성대조군으로 사용된 나이아신 아마이드와 알부틴은 미백기능성 원료로 사용되는 식약처 고시 원료이다.

본 실험에 대한 tyrosinase 활성 억제 효과는 Figure 3에 나

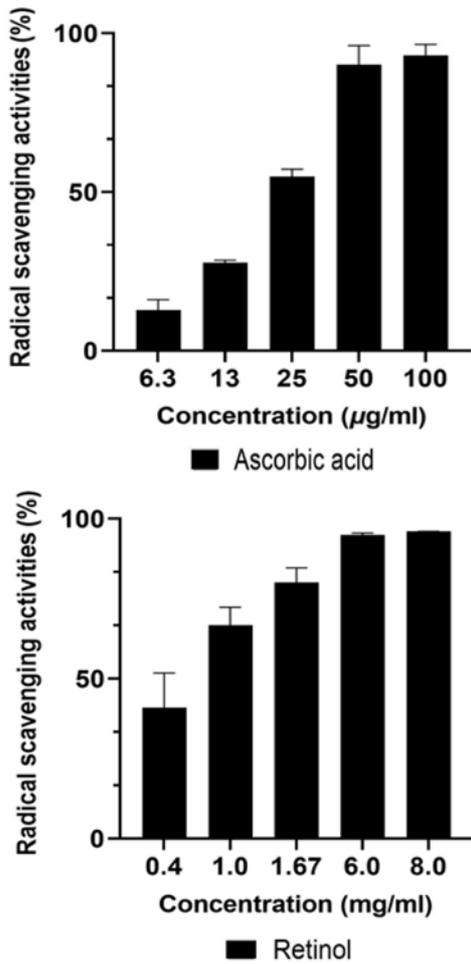


Figure 2. DPPH radical scavenging activities of retinol and ascorbic acid.

타내었다. 나이아신 아마이드는 50, 100, 200, 300, 400 mg/mL 농도에서 23.0, 39.9, 63.7, 80.8, 85.3, 85.3%의 tyrosinase 활성억제를 보였다. 알부틴은 2, 4, 5, 8, 10 mg/mL 농도에서 69.3, 83.7, 87.9, 91.6, 94.0%의 tyrosinase 활성 억제를 보였으며, 레티놀의 tyrosinase 활성 억제 효력으로 1, 1.67, 4, 8, 10 mg/mL 농도에서 39.7, 43.0, 69.1, 71.2, 82.0%를 보여주었다. 레티놀의  $IC_{50}$  값은 5.13 mg/mL로 측정되었으며, 양성 대조군으로 사용한 나이아신 아마이드와 알부틴의  $IC_{50}$  값은 각각 2.86과 149.05 mg/mL로 확인되었다. 효능 결과를 종합해서 농도 의존적으로 멜라닌 합성을 저해시킴을 확인하였다. 레티놀 2500 IU를 사용한 농도였을 경우,  $43.0 \pm 2.0\%$ 를 나타내어 미백 효능에 도움을 줄 수 있는 것으로 사료되며, 향후 멜라닌 생성에 관련된 DOPA inhibition 실험에 대해 추가적인 실험이 필요할 것으로 판단된다.

**용해도 측정 및 적합성 실험.** 마이셀을 제조하기 위한 오일과 계면활성제는 레티놀에 대해 어느 정도의 용해도가 있어야

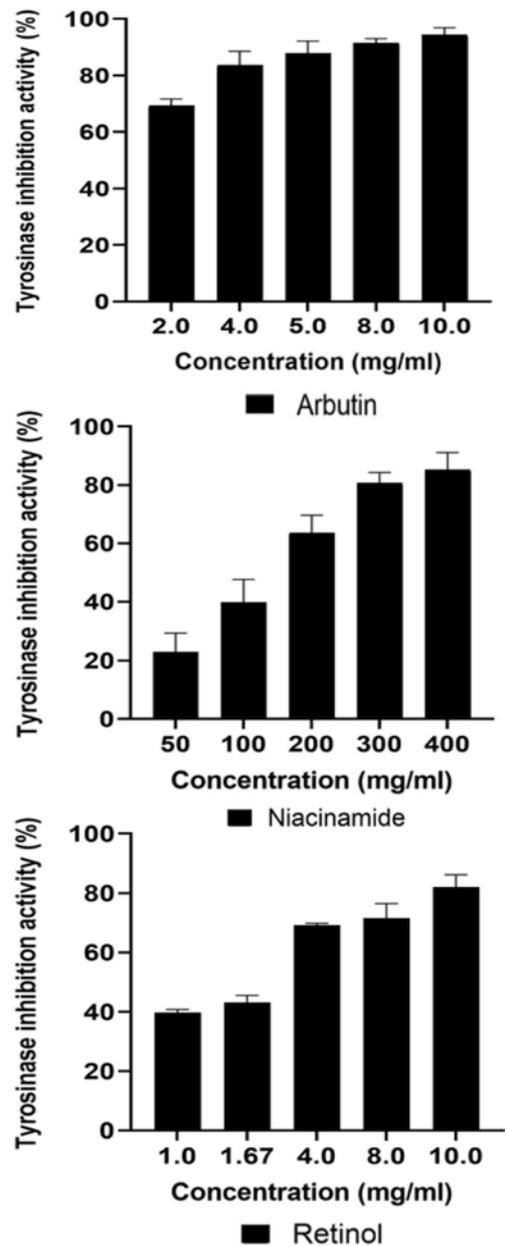


Figure 3. Tyrosinase inhibition activities of retinol and ascorbic acid.

한다. 약제학적으로 허용되는 오일 및 계면활성제에 대한 레티놀의 용해도를 측정해 본 결과를 Table 2에 나타내었다. 레티놀을 Tween20, PEG400, Brij92, Capryol90, Transcutol, Brij30, oleic acid, LABRASOL, 1,3-butylene glycol, propylene glycol에 용해시켜 용해도를 비교하였을 때 레티놀 이 용해되지 못하고 필터에 걸리지는 성상을 나타내는 Brij92, Capryol90, Brij30, oleic acid, 1,3-butylene glycol, propylene glycol 등과 달리 Tween20, Transcutol, LABRASOL 등은 높은 용해도를 보였다. 이 실험을 진행하기에 적합한 용해제로

**Table 2. Solubilization Capacity of Retinol with Various Oils**

NO.	Oils	Solubilization capacity(%)
1	Tween20	87.3%
2	PEG400	12.2%
3	Brij92	-
4	Capryol90	-
5	Transcutol	38.7%
6	Brij30	-
7	Oleic acid	-
8	LABRASOL	66.9%
9	1,3 Butylene glycol	17.7%
10	Propylene glycol	5.7%

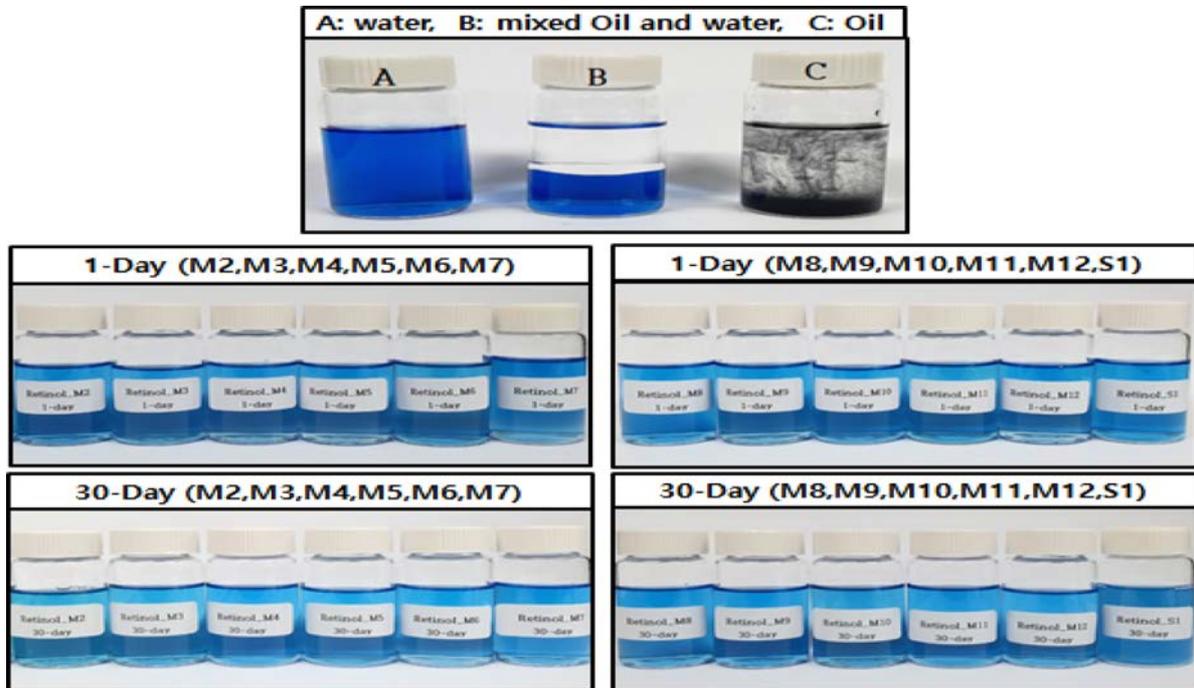
∴ Not used.

용해율이 가장 높았던 Tween20을 선정하여 사용하였다.

이를 바탕으로 마이셀을 제조하기 위해 산화방지제 BHA 및 BHT를 첨가한 비율 중에서 고분자 계면활성제와 보조계면활성제를 최적의 조성을 설계하였다. 제조된 마이셀은 자체로 안정함을 유지하여야 하고 수상에서도 나노입자를 형성하여 투명함을 나타내야 한다. 따라서 제조된 각 마이셀의 상태 및 유화액의 상태에서 결정 또는 상분리 등 없이 안정함을 유지하는 여부를 7일 동안 확인하였다.

**미세유화측정실험.** 조한 레티놀의 마이셀은 용해제와 폴록사머를 첨가한 다음 물을 가하면 자가유화를 일으켜 투명한 액상이 된다. 여기에 수용성 염료인 메틸렌블루를 적정량을 가하여 수중유형을 확인하였다. 메틸렌블루 염료가 혼합된 수상 A, 메틸렌블루 염료가 혼합된 수상과 오일이 혼합된 B, 메틸렌블루 염료와 오일이 혼합된 C를 확인한 후, 각 조성을 메틸렌블루 용액을 가하였다. 마이셀이 만들어진 조성에서는 메틸렌블루 용액과 혼합되었을 때 투명했으며, 균일하게 분포되었음을 확인하였다. 30일 뒤, S1은 입자 안정성이 물리적으로 불안정하여 탁해짐을 확인하였다. M2는 산화방지제를 첨가하지 않았기 때문에 레티놀이 산화되어 진노랑색으로 갈변현상이 있어, 메틸렌블루 염료 용액과 적정량을 섞었을 시 색상변화가 미세하게 있었음을 확인하였다. 또한 조성 M7, M11, M12는 결정이 석출되거나 침전이 생기는 등의 불안정한 상태를 나타내었다. 따라서 조성 M3, M4, M5, M6, M8, M9, M10은 30일 동안 안정적으로 분산된 상태를 이루고 있음을 확인하였다(Figure 4).

**입도측정.** 레티놀이 환경적으로 노출되었을 때 안정성이 떨어지는 것을 개선하기 위해 폴록사머를 첨가하여 제조한 레티놀 마이셀 입자크기를 확인하였다. 또한 산화방지제 BHT 및 BHA 함량에 따른 입자크기 및 다분산지수를 확인하였다. 입자크기의 측정은 1일, 30일 간격으로 두 번 측정하여 Table 3에 나타내었다. 마이셀 입자를 제조 직후 측정한 결과, 용해제 Tween20과 레티놀이 분산된 상태의 S1은 입자크기가 마



**Figure 4.** Staining test using methylene blue: Mixture of methylene blue and (A) water, (B) oil and water, (C) oil conformation test of o/w microemulsion using dye solubility method.

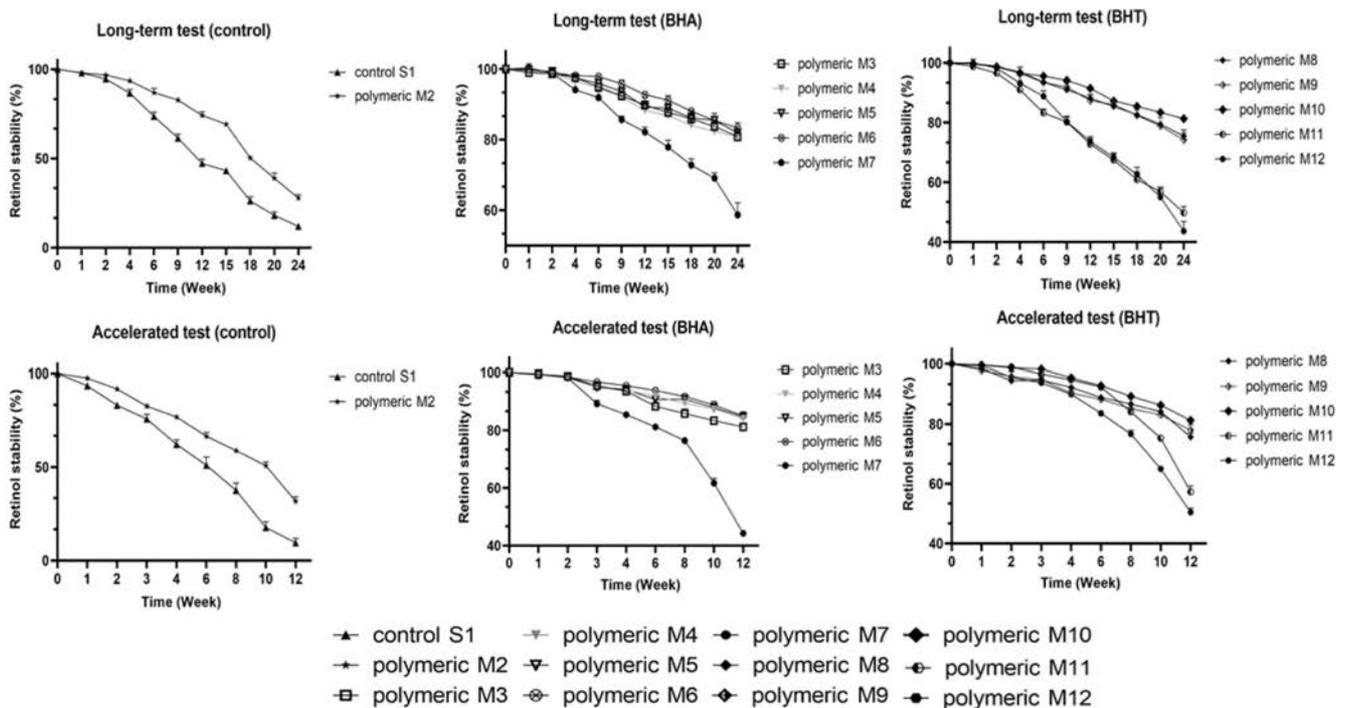
**Table 3. Average Particle Size of Retinol Analyzed by Zetasizer Nano (ZS90)**

Code	Z-average (d.nm)			
	1-day	PDI	30-day	PDI
S1	202.4	0.342	-	-
M2	12.32	0.126	12.02	0.221
M3	11.66	0.074	12.95	0.089
M4	14.71	0.063	15.30	0.111
M5	16.72	0.133	14.90	0.136
M6	17.83	0.128	18.34	0.134
M7	18.34	0.238	149.1	0.865
M8	21.11	0.096	19.60	0.127
M9	16.96	0.103	17.55	0.138
M10	20.84	0.108	21.53	0.197
M11	41.22	0.241	203.3	0.687
M12	31.19	0.460	259.0	1.020

이셀을 형성한 조성들에 비해 불안정했으며, 입자크기는 200 nm 이상을 보였다. 또한 다분산지수가 0.3 이상을 나타내어 분산이 고르지 못하다는 것을 알 수 있었다. 고분자 마이셀의 산화방지제 함량에 따른 조성을 비교하였을 때 BHT 조성은 BHA 조성과의 입자크기에서 차이를 보였으며, 전체적으로 산화방지제 함량이 늘수록 입자가 커짐을 확인하였

다. BHA에 비해 BHT의 분산도지수가 상대적으로 컸으며, 이는 입자들이 불규칙적으로 응집된 상태로 다분산이라는 것을 알 수 있었다. 30일이 지난 시점에서 마이셀의 입도 측정 결과, S1은 1일에 비해 1000 nm 이상의 값으로 측정이 어려웠으며, Figure 7에서 나타내었듯이 육안적인 탁해짐을 볼 수 있었다. 산화방지제 함량이 많은 조성으로 M7, M11, M12에서 침전이 있었으며 입자크기에 영향을 준 것으로 판단된다. 또한 다분산 지수가 한 달 사이에 큰 증가로 입자 안정성이 떨어짐을 확인하였다. 그리고 M7, M11, M12 외에 나머지 조성에서는 입자크기에 큰 변화가 없었으며, 침전 또는 혼탁, 층 분리현상 없이 투명한 상태에서 안정적인 입자를 유지하는 것을 확인하였다.

**안정성 평가.** 마이셀로 제조한 샘플을 산화방지제 BHA 및 BHT 함량별 조건으로 비교하여 장기안정성 시험을 진행하였으며 보관온도 25±2 °C, 습도 60±5%, 6개월간 특정 시점마다 확인하였다. 마이셀 제조 후 6개월 동안 보관하며 1일, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24주 간격으로 샘플을 채취하여 HPLC로 레티놀의 함량을 분석하였다. 장기안정성 시험에 대한 각 조성들의 레티놀 함량을 standard와 비교하였을 때 조성 M3, M4, M5, M6, M10는 80% 이상 레티놀 함량이 유지되는 것을 Figure 5에 나타내었다. 조성 S1은 레티놀과 용해제가 물에 분산된 상태로 마이셀 안에 봉입한 형태가 아니었기 때문에 오히려 빛에 노출되어 안정성이 현저하게 감소하였고, 마찬가지로 M2는 산화방지제를 첨가하지 않은 불안정



**Figure 5.** Stability of long-term test and accelerated test of micelle in water phase measured by HPLC.

한 상태로 안정성이 급격히 떨어지는 것을 확인하였으며 다른 조성과 비교해 빠른 감소양상을 보여주었다. 이와 동시에 가속안정성 시험을 진행하였으며 보관온도 40±2 °C, 습도 75±5%, 3개월간 특정 시점마다 확인하였다. 마이셀 제조 후 1일, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12주 간격으로 샘플을 채취하여 HPLC로 레티놀의 함량을 분석하였다. 가속 안정성 시험에 대한 각 조성의 레티놀 함량을 standard와 비교하였을 때 조성 M3, M4, M5, M6, M10는 80% 이상 레티놀 함량을 유지하는 것을 Figure 5에 나타내었다. 장기안정성과 동일한 양상으로 조성 S1과 M2는 빠른 감소로 불안정함을 보여주었다. 전체적으로 BHT를 첨가한 조성보다 BHA를 첨가한 조성의 함량이 매우 안정적인 것을 확인하였다. BHT에 존재하는 *tert-butyl*기가 입체장애를 일으켜 항산화 효과가 떨어지는 것으로 판단되며,<sup>26</sup> 이 근거로 조성 M11, M12에서 결정성 침전이 일어나는 이유가 될 수 있다.

**Cryo-SEM 측정.** 제조한 마이셀의 투명한 정도와 미세유화 여부를 Figure 7을 통해 육안으로 관찰하였다. 이후 입자 크기를 Zetasizer Nano(ZS90) 기기를 이용한, 동적 광산란 분자 및 입자의 크기 측정을 위해 90도 산란각을 사용하여 입자 크기를 확인하였다. 마이셀 조성 중 안정성 평가에서 함량 분석 80% 이상 유지한 것을 선정하여 마이셀이 형성된 표면이 구형 입자로 형성되었는지 확인하여 결과를 Figure 6에 나타내었다. Cryo-SEM(Quorum Technologies PP3000T)으로 측정하였으며, 그 결과 마이셀의 입자는 구형으로 제조되었음을 확인하였다.

**피부투과.** 제약과 화장품 산업에서는 인공피부(membrane), human skin, nude mouse skin을 이용하여 표피 또는 진피까지 투과가 증진될 수 있는지 피부투과율을 측정한다. 인공피

부 Start-M을 이용하여 피부투과율을 확인한 다음, 동물실험을 대체하여 인간의 피부를 재현한 삼차원 배양 피부 모델이며, 실제 살아있는 세포로 구성된 Neoderm-ED으로 피부투과율을 한 번 더 확인하였다. Neoderm-ED은 진피층을 포함한 피부 전 층으로 구성되어 인간의 피부를 대신한다. 그러므로 실제 피부와 동일한 양상을 보여줄 수 판단되어 Neoderm-ED를 선택하게 되었다. 레티놀은 피부 침투가 어렵다고 알려져 있으며, 이를 개선하기 위해 고분자 마이셀을 형성한 담체 안에 봉입된 레티놀의 흡수율 양상을 확인하고자 하였다.<sup>27</sup> 입자, 분산, 함량 등의 안정성을 확인하였을 때 가장 안정적인 M3과 대조군 S1을 설정하였으며, 용해제 Tween20에 분산되어 계면막을 형성한 S1을 비교로 피부투과 실험을 진행하였다. S1과 M3을 멤브레인에 적정량 도포 후 1, 2, 4, 8, 12, 24시간 간격으로 일정량을 취하여 HPLC 분석으로 레티놀 함량을 확인하여 standard의 면적값과 비교하였다(Figure 7). 실험 시작 1시간 이후 M3를 도포한 Neoderm-ED와 Strat-M membrane에서 S1에 비해 투과 속도가 높음을 확인하였다. M3의 투과된 레티놀의 함량은 측정 시작 이후부터 증가하였으나, S1은 24시간 동안 측정하였을 때 투과된 레티놀 함량이 거의 없었다.

본 연구에서 사용한 Neoderm-ED와 Strat-M membrane에

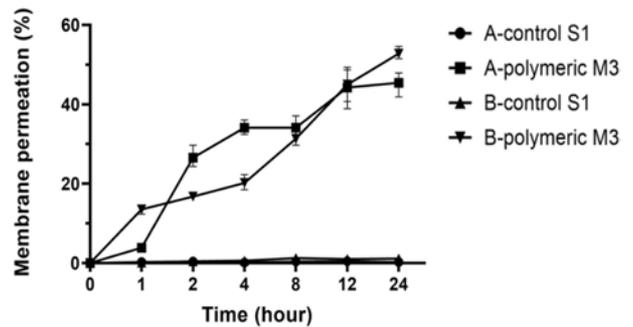


Figure 7. Concentration of retinol absorbed was made by HPLC (A: Strat-M Membrane; B: Neoderm-ED).

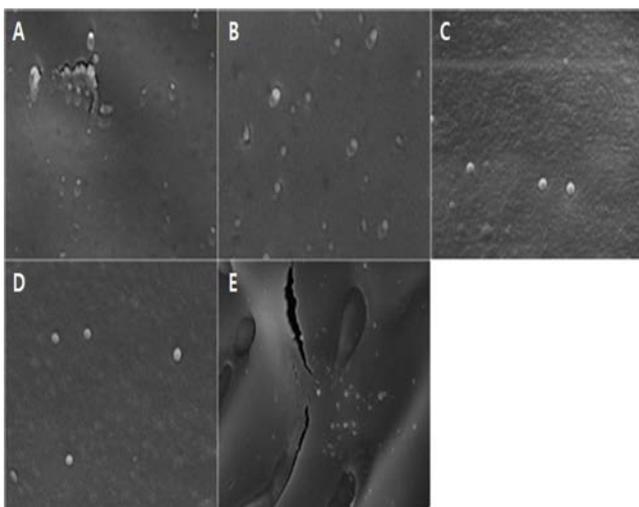


Figure 6. Cryo-SEM (Quorum Technologies PP3000T) image of (A) M3 (50 kx); (B) M4 (50 kx); (C) M5 (50 kx); (D) M6 (50 kx); (E) M10 (50 kx).

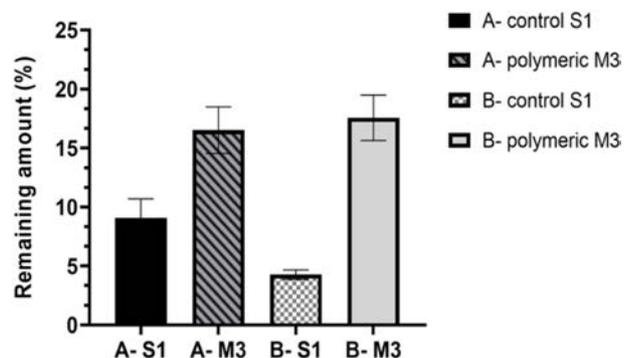


Figure 8. Content of retinol remaining on the membrane after 24 h (A: Strat-M Membrane; B: Neoderm-ED).

남아있는 레티놀의 잔류량은 Figure 8에 나타내었다.<sup>28</sup> 폴록사머를 첨가하여 마이셀이 형성된 M3은 16.5±1.6%, 17.6±1.6%의 레티놀 잔류량을 확인하였으나, S1은 8.1±1.3%, 4.3±0.3%으로 조성 M3보다 적은 잔류량을 확인하였다. Table 3에서 조성 S1은 제조된 후 입자의 안정성이 물리적으로 불안정하여 입도가 커지는 현상을 나타내었으며 이는 피부투과에 영향을 줄 수 있음을 확인하였다. 사용된 Neoderm-ED와 Strat-M membrane의 투과도 차이가 있을 수 있지만, 피부투과 결과로 미루어 볼 때 입자크기가 50 nm 이하로 작을수록 피부투과율이 높아지는 것으로 판단된다.<sup>29,30</sup> 따라서 제형 내에 폴록사머를 첨가하여 제조한 고분자 마이셀은 피부 흡수가 용이하여 피부에 미치는 영향력이 높을 것이라 기대할 수 있다.

## 결 론

레티놀은 빛, 열 및 산소에 대해 불안정하다는 특징이 있다. 따라서 레티놀에 대한 새로운 안정화 기술이 요구되고 있다. 이러한 추세에 따라 안정성이 개선된 레티놀 폴리머 마이셀 연구를 수행하게 되었다. DPPH reactive oxygen species 효력시험을 진행하여 항산화제에 의한 환원작용 우수성을 레티놀의 농도별 활성을 통해 확인하였다. 레티놀의 DPPH free 라디칼 소거활성 효과는 농도 의존적으로 증가하였으며, 양성대조군으로 사용한 아스코르빅산보다 소거활성 효력은 미흡하였다. 수용성 물질인 아스코르빅산의 효력은 우수하였으나 공기와 물에 접촉이 되면 빠른 산화반응을 일으켜 오히려 수용액상에서 불안정하다는 문제점이 있다. 반면에, 난용성 물질인 레티놀을 수용화하였을 때 안정적인 물질로, 2500 IU 농도를 사용하였을 때 레티놀이 피부에서 일어나는 산화 스트레스를 감소시켜 직접적인 영향을 줄 수 있는 항산화 소재로서 가능성이 있다고 판단된다. 최근 화장품 소재개발 분야에 있어서 주름 또는 미백 기능성 등을 확대해 나가는 추세이다. 레티놀은 항산화 기능이 잘 알려져 있지만, 피부에 또 다른 생리활성을 보여주는지 확인하고자 미백 효력 시험을 추가로 진행하였다. *In vitro* tyrosinase 활성 저해력을 양성대조군과 함께 평가하여 효능을 검토하였다. 레티놀의 tyrosinase 활성 저해 효과는 농도 의존적으로 증가하였다. 미백 활성효력이 나이아신 아마이드와 비교하였을 때 높은 활성값을 나타내어 자외선으로부터 받은 손상 개선에 도움을 줄 수 있다고 판단되어 진다. 이로써 항산화 기능성과 복합적인 기능으로 미백의 효능을 보여줄 수 있다.<sup>31</sup> 환경적으로 불안정한 레티놀은 BHA 및 BHT를 함유하여 산화되는 것을 방지함과 동시에 생체적합성 폴리머를 사용하여 부족한 용해성의 단점을 해결하고자 하였다. 고분자 마이셀을 제조하여 레티놀의 나노입자의 안정성에 관한 연구를 진행하였다. 용해제와 계면활성제 및 보조계면활성제로 마이셀 입자를 제조하

여 난용성 물질인 레티놀의 용해도를 향상시켰다.<sup>32</sup> 식약처 안전성 가이드라인을 바탕으로 장기안정성과 가속안정성을 확인한 결과 BHT보다 BHA를 첨가하였을 때 가장 안정적으로 유지되었다. 또한 입자 사이즈와 다분산 지수를 측정하여 입자의 안정성이 높은 조성을 확인한 후 피부투과 실험에 실험군으로 진행하였다. 레티놀을 용해제에 녹인 상태에서 물에 분산시킨 S1보다 고분자를 첨가하여 마이셀화한 M3가 더 높은 피부투과율을 나타내었다.<sup>33,34</sup> S1은 용해제와 계면활성제 역할을 하는 Tween20으로 제조하였을 때 투명함을 보였지만, 시간이 지나면서 현탁 현상을 보였다. 계면 막이 얇아 쉽게 크리밍 현상으로 침전을 일으켜 입자크기가 커진 상태에서 투과가 어렵다.<sup>35,36</sup> 고분자 마이셀 기술을 이용하여 나노입자의 크기를 형성하고 단단한 표면 막을 형성한 마이셀은 입자안정성과 장기안정성 및 가속안정성, 피부투과에 영향을 줄 수 있다고 판단된다.

## 참 고 문 헌

- Sies, H. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Exp. Physiol.* **1997**, 82, 291-295.
- Gülçin, İ. Antioxidant Properties of Resveratrol: A Structure-activity Insight. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2010**, 11, 210-218.
- Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C.; Cross, C. E. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Where are We Now?. *J. Lab. Clin. Med.* **1992**, 119, 598-620.
- Riahi, R. R.; Bush, A. E.; Cohen, P. R. Topical Retinoids: Therapeutic Mechanisms in the Treatment of Photodamaged Skin. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2016**, 17, 265-276.
- Khalil, S.; Bardawil, T.; Stephan, C.; Darwiche, N.; Abbas, O.; Kibbi, A. G.; Nemer, G.; Kurban, M. Retinoids: A Journey from the Molecular Structures and Mechanisms of Action to Clinical Uses in Dermatology and Adverse Effects. *J. Dermatol. Treat.* **2017**, 28, 684-696.
- Torma, H.; Lontz, W.; LIU, W.; Rollman, O.; Vahlquist, A. Expression of Cytosolic Retinoid-binding Protein Genes in Human Skin Biopsies and Cultured Keratinocytes and Fibroblasts. *Br. J. Dermatol.* **1994**, 131, 243-249.
- Beckenbach, L.; Baron, J. M.; Merk, H. F.; Löffler, H.; Amann, P. M. Retinoid Treatment of Skin Diseases. *Eur. J. Dermatol.* **2015**, 25, 384-391.
- Jung, Y R.; Kim, D. H.; Kim, S. R.; An, H. J.; Lee, E. K.; Tanaka, T.; Kim, N. D.; Yokozawa, T.; Park, J. N.; Chung, H. Y. Anti-Wrinkle Effect of Magnesium Lithospermate B from *Salvia miltiorrhiza* BUNGE: Inhibition of MMPs via NF-κB Signaling. *PLoS ONE*, **2014**, 9, e102689.
- Sinko, P. J.; Singh, Y. *Martin's Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences: Physical Chemical and Biopharmaceutical Principles in the Pharmaceutical Sciences*. Wolters Kluwer: China, 2011; pp 210-244.

10. Lee, S. C.; Yuk, H. G.; Lee, D. H.; Lee, K. E.; Hwang, Y. I.; Ludescher, R. D. J. Stabilization of Retinol through Incorporation into Liposomes. *Biochem. Mol. Biol.* **2002**, 35, 358-363.
11. Lee, S.-C.; Lee, K.-E.; Kim, J.-J.; Lim, S.-H. The Effect of Cholesterol in the Liposome Bilayer on the Stabilization of Incorporated Retinol. *J. Liposome Res.* **2005**, 15, 157-166.
12. Lee, C.-H.; Kim, D.-M.; Byun, S.-Y. Effect of Liposomal Encapsulation of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* on Stabilities for Cosmeceuticals. *KSBB J.* **2011**, 26, 381-385.
13. Yang, E. J. Study on the Stability Inside the Skin of the Liposome Technology. *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetics Society* **2005**, 3, 105.
14. Jennings, V.; Gohla, S. H. Encapsulation of Retinoids in Solid Lipid Nanoparticles (SLN). *J. Microencapsul.* **2001**, 18, 149-158.
15. Kim, D. G.; Jeong, Y. I.; Choi, C.; Roh, S. H.; Kang, S. K.; Jang, M. K.; Nah, J. W. Retinol-encapsulated Low Molecular Water-soluble Chitosan Nanoparticles. *Int. J. Pharm.* **2006**, 319, 130-138.
16. Park, Y. A.; Woo, Y. R.; Ji, H. K.; Yoo, H. K.; Na, G.; Lee, J. H. The Study for Retinol Stability Using Layered Double Hydroxides(LDH) and Adaptable Vesicle. *J. Korean Society of Cosmetics and Cosmetology* **2015**, 5, 291-296.
17. Eskandar, N. G.; Simovic, S.; Prestidge, C. A. Chemical Stability and Phase Distribution of All-trans-retinol in Nanoparticle-coated Emulsions. *Int. J. Pharm.* **2009**, 376, 186-194.
18. Ghouchi-Eskandar, N.; Simovic, S.; Prestidge, C. A. Solid-state Nanoparticle Coated Emulsions for Encapsulation and Improving the Chemical Stability of All-trans-retinol. *Int. J. Pharm.* **2012**, 423, 384-391.
19. Owen, S. C.; Chan, D. P. Y.; Shoichet, M. S. Polymeric Micelle Stability. *Nano Today* **2012**, 7, 53-65.
20. Lee, H. J.; Kim, J. H. Special Issue / Functional Polymer Colloid: Preparation of Functional Polymer Particles. *Chemical Industry and Technology* **1996**, 14, 529-541.
21. Martinez-Esparza, M.; Jimenez-Cervantes, C.; Solano, F.; Lozano, J. A.; Garcia-Borron, J. C. Mechanisms of Melanogenesis Inhibition by Tumor Necrosis Factor-alpha in B16/F10 Mouse Melanoma Cells. *Eur. J. Biochem.* **1998**, 255, 139-146.
22. Maeda, K.; Fukuda, M. J. *In Vitro* Effectiveness of Several Whitening Cosmetic Components in Human Melanocytes. *Soc. Cosmet. Chem.* **1991**, 42, 361-368.
23. Yeh, M.-K.; Chang, L.-C.; Chiou, A. H.-J. Improving Tenoxicam Solubility and Bioavailability by Cosolvent System. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* **2009**, 10, 166-171.
24. Croy, S. R.; Kwon, G. S. The Effects of Pluronic Block Copolymers on the Aggregation State of Nystatin. *J. Control. Release* **2004**, 95, 161-171.
25. Behrendorff, J. B.; Vickers, C. E.; Chrysanthopoulos, P.; Nielsen, L. K. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl as a Screening Tool for Recombinant Monoterpene Biosynthesis. *Microb. Cell Fact.* **2013**, 12, 76.
26. Lanigan, R. S.; Yamarik, T. A. Final Report on the Safety Assessment of BHT(1). *Int. J. Toxicol.* **2002**, 21, 19-94.
27. Clares, B.; Calpena, A. C.; Parra, A.; Abrego, G.; Alvarado, H.; Figueiro, J. F.; Souto, E. B. Nanoemulsions (NEs), Liposomes (LPs) and Solid Lipid Nanoparticles (SLNs) for Retinyl Palmitate: Effect on Skin Permeation. *Int. J. Pharm.* **2014**, 473, 591-598.
28. Oh, Y.-K.; Kim, M. Y.; Shin, J.-Y.; Kim, T. W.; Yun, M.-O.; Yang, S. J.; Choi, S. S.; Jung, W.-W.; Kim, J. A.; Choi, H.-G. Skin Permeation of Retinol in Tween 20-based Deformable Liposomes: *In-vitro* Evaluation in Human Skin and Keratinocyte Models. *J. Pharm. Pharmacol.* **2006**, 58, 161-166.
29. Sharif Makhmalzade, B.; Chavoshy, F. Polymeric Micelles as Cutaneous Drug Delivery System in Normal Skin and Dermatological Disorders. *J. Adv. Pharm. Technol.* **2018**, 9, 2.
30. Shaker, D. S.; Ishak, R. A. H.; Ghoneim, A.; Elhuoni, M. A. Nanoemulsion: A Review on Mechanisms for the Transdermal Delivery of Hydrophobic and Hydrophilic Drugs. *Sci. Pharm.* **2019**, 87, 17.
31. Sato, K.; Morita, M.; Ichikawa, C.; Takahashi, H.; Toriyama, M. Depigmenting Mechanisms of All-Trans Retinoic Acid and Retinol on B16 Melanoma Cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2008**, 72, 2589-2597.
32. Treiner, C. The Partitioning of Neutral Solutes Between Micelles and Water as Deduced from critical Micelle Concentration Determinations. In *Solubilization in surfactant aggregates*; Christian, S. D.; Scamehorn, J. F., Eds.; CRC Press: Boca Raton, USA, 1995; vol. 55, pp 383-428.
33. Prince, L. M. A Theory of Aqueous Emulsions I. Negative Interfacial Tension at the Oil/water Interface. *J. Colloid Interface Sci.* **1967**, 23, 165-173.
34. Nastiti, C.; Ponto, T.; Abd, E.; Grice, J.; Benson, H.; Roberts, M. Topical Nano and Microemulsions for Skin Delivery. *Pharmaceutics* **2017**, 9, 37.
35. Bae, M.; Lim, Solubilization Mechanism of n-Octane by Polymeric Nonionic Surfactant Solution. *J. Appl. Chem. Eng.* **2009**, 20, 15-20.
36. Weiss, J.; Cancelliere, C.; McClements, D. J. Mass Transport Phenomena in Oil-in-Water Emulsions Containing Surfactant Micelles: Ostwald Ripening. *Langmuir*, **2000**, 16, 6833-6838.

**출판자 공지사항:** 한국고분자화학회는 게재된 논문 및 기관 소속의 관할권 주장과 관련하여 중립을 유지합니다.