

이소플라본을 함유한 마이크로에멀전의 안정성 및 응용 평가

정노희 · 문영진 · 이향우* · 남기대

충북대학교 화학공학부 공업화학전공 · *경남도립거창전문대학 뷰티디자인과
(2002년 4월 26일 접수 ; 2002년 5월 24일 채택)

The Evaluation for Stabilization and Application of Microemulsion Containing Isoflavone

Noh-Hee Jeong · Young-Jin Moon · Hyang-Woo Lee* · Ki-Dae Nam

School of Chem. Eng. Chungbuk Nat'l Uni., Cheonju 361-763, Korea

*Dept. of Beauty Design Keochang Provincial College, Kyeongnam 670-804, Korea

(Received April 26, 2002 ; Accepted May 24, 2002)

Abstract : The isoflavone as a derivatives of flavone is colorless crystalline compounds. It acts on synthesis of fibronectine, collagen III, collagen I in human normal fibroblast by same biological activity to animal hormone. In this study, we tried to search and demonstrate system content rate of dermal translocation system for cosmetics using microemulsion containing isoflavone. The results of microemulsion stability test by centrifugation, storage in incubator and circulation chamber showed that separation of phase did not appear after 30 days. By the skin flexibility test, it has confirmed efficiency and effect as cosmetics materials. As the result, the microemulsion showed that skin flexibility factor improved up to 7.6%. We could confirm that O/W type microemulsion was stable system.

Keywords : *isoflavone, biological activity, microemulsion stability, skin flexibility test, O/W type microemulsion.*

1. 서 론

이소플라본은 플라본의 유도체로서 식물체내에 존재하는 무색 결정 화합물이며 각종 황색소의 기본 물질이다. 피부 생리 현상의 중요역할을 하는 호르몬인 스테로이드 제재와 기본 구조가 유사하며 동물성 호르몬과 동일한 생물학적 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다[1]. 이소플라본은 daidzine, estrone, progesterone 및 스

테롤 성분 중 β -sitosterol 등이 중요 구성 물질로서 피부 생리 활성화에 대한 실험적 효능·효과에 대한 연구는 인간의 정상적인 섬유 아세포에서 콜라겐 I, 콜라겐 III, 피브로넥틴의 합성에 작용하는 것으로 밝혀졌다[2]. 또한 자외선에 노출되었을 때 피부의 sun burn 현상으로 발생된 자극을 완화시키는 것으로 보고되어 있다[3]. 그리고 노화된 피부의 색소 침착 및 멜라닌 합성 억제 효과로 피부 미백용 제품에 응용할 수

있다는 연구 결과도 있다[4]. 이러한 피부 유효성 물질을 인체 내부에 효과적으로 전달하기 위해 의약계에서는 DDS(drug dilvery system)의 연구가 활발히 진행되어 왔으며, 최근에는 화장품 산업에서 마이크로에멀전이라는 제제기술을 응용하여 피부에 전달시킬 수 있는 방법이 연구되고 있다. 마이크로에멀전은 1970년대 들어오면서 그 잠재적인 우수성이 입증되었으며, 약물 전달 시스템으로서 마이크로에멀전의 응용에 대한 잠재성이 평가되기 시작한 것은 80년대부터였다[5]. 이는 매우 작은 직경을 갖고 열역학적으로 매우 안정하여 좋은 약물 운반체로서 이용될 수 있으며 약물이 소수성으로 낮은 용해도를 가지기 때문에 생체 이용률이 저하될 경우 경구 제형으로 마이크로에멀전을 사용할 수 있을 것이다. 또한 지용성 약물을 외상이 수상으로써 쉽게 인체에 투여할 수 있으며 그 외에도 여과에 의해 멸균이 될 수 있으므로 W/O형 마이크로에멀전 주사제로서의 연구가 보고된 바 있다[6]. 그리고 외용제로서 특히, 화장품 등[7]에서 주목을 받고 있으며 경피 전달제로서의 응용 가능성이 기대되고 있다.

본 연구에서는 비이온성 계면활성제 물, 오일, 이소플라본을 함유한 안정한 O/W형 마이크로에멀전을 이용한 화장품용 경피 전달 시스템의 수송체를 설계하고 여기에 활성인자인 식물성 이소플라본과 함께 제조된 마이크로에멀전의 물리적 특성 및 안정성을 평가하고자 하였다. 따라서 본 연구는 피부 생리 활성화 효과가 있고 동물성 호르몬과 유사한 화학 구조를 갖는 이소플라본을 함유하는 마이크로에멀전의 제형 연구를 통해 보다 효과적으로 피부에 흡수가 되며 환경 요인에 대해 안정적인 유화입자로 제형 안정성이 우수한 화장품용 제제의 기본적인 응용 가능성을 평가하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 시료 및 기기

본 실험에 사용된 오일 성분, 계면활성제는 전보[8]와 동일하며, 그밖에 시약은 특급 또는 일급으로 사용하였다.

마이크로에멀전의 제조는 호모믹서(TK Robomixer, Tokushu Kika Co. Ltd., Japan)와 마이크로 플루다이저(Microfluidizer M-110F,

Microfluidic Co., U.S.A)를 사용하였으며, 제형의 경시 안정성 측정을 위해 투광도는 자외선 분광광도계(Perkin Elmer Lambda 16, U.S.A), 온도 안정성은 항온조(MIR 252, Sanyo Co., Japan) 및 항온 순환조(MTH 4400T, Sanyo Co., Japan), 피부탄력성 측정은 피부탄력도 측정기(Derma Toque meter, Diastion Co., U.K)를 각각 사용하였다.

2.2. O/W 마이크로에멀전의 제조

마이크로에멀전은 비이온성 계면활성제와 오일 및 활성성분인 이소플라본 그리고 2차 증류수를 사용하여 제조하였으며, 수상, 오일, 유화제의 성분 비율 및 제조방법 등은 전보[8]에서 자세히 보고하였으며, 그 중에서 수상, 오일 및 유화제의 성분 비율은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Method of Preparing Microemulsion with Surfactants

Material	Composition (wt %)			
	A	B	C	D
POE(20)- Monostearate	5	-	-	-
POE(30)- Monostearate	-	5	-	-
POE(40)- Monostearate	-	-	5	-
POE(40)- Hydrogenated Castor Oil	-	-	-	5
Liquid-Paraffin	2	2	2	2
Isoflavone	1	1	1	1
Distilled Water	92	92	92	92
Total	100	100	100	100

2.3. 마이크로에멀전의 물성 평가

2.3.1. 제형 안정성 측정

온도에 따른 안정성 측정은 최종 시료 제조 후 10g을 계량하여 각 물질을 30ml 바이얼 병에 넣고 25℃로 조절된 인큐베이터에 넣어 보관하였으며, 30일 후 육안으로 상 분리 여부를 관찰하였다. 또한 항온 순환조(4℃→25℃→35℃→

42℃/4일)에 동일 조건의 샘플을 투입하여 15일 후의 상 분리 여부를 육안으로 관찰하였다. 원심 분리에 의한 안정성 측정은 최종 시료의 제조 후 30ml 테스트 튜브에 약 15ml를 투입하여 원심분리기에 삽입한 후, 3,500rpm으로 30분간 원심 분리하여 상 분리 여부를 관찰하였다.

2.3.2. 피부 탄력성 측정

피부 탄력도 변화를 측정하기 위해 피 실험자의 팔에 이소플라본을 함유한 마이크로에멀전 시료를 도포 한 뒤 2시간 경과 후 접착포를 부착하고 피부 탄력 측정기의 토크(Torque)를 10mNm으로 10초간 센서를 밀착하여 피부 탄력도를 측정하였다.

또한 이소플라본을 함유한 O/W 마이크로에멀전이 형성된 시료를 피부 정상 섬유 아세포(Fibroblast cell)에 구성 성분인 단백질류인 콜라겐 I, 콜라겐III, 피브로넥틴 등의 합성에 상승 효과를 실험하기 위하여 일곱 단계의 과정을 통해 배양된 정상 섬유 아세포의 세포를 얇게 자른 후 세포 배양기에서 온도 37℃, 이산화탄소 농도 5%, 80%의 고습도 조건에서 배양한다. 다음으로 이소플라본이 1 wt% 함유한 O/W 마이크로에멀전 시료를 배양된 세포에 60분간 접촉한 뒤 식염수에 행구어 48시간 경과 후 콜라겐 I, 콜라겐III, 피브로넥틴 등을 각각의 항체를 사용하여 분리 한 뒤 전자현미경으로 세포들의 합성 상태를 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 제형 안정성 평가

각 시료 샘플을 25℃에 인큐베이터에 투입하고 상 분리 여부를 30일간 지속적으로 관찰한 결과 마이크로에멀전을 형성한 시료들의 상 분리 현상은 나타나지 않았으며, 순환조(4℃→25℃→35℃→42℃/4일)에서 15일간 관찰한 결과 도 역시 상 분리 현상 없이 맑고 투명한 상태의 안정한 마이크로에멀전을 유지하는 결과를 얻었다. 이상의 결과를 Table 2에 나타내었다. 원심 분리에 대한 안정성은 O/W 마이크로에멀전 제조 후 1일 및 30일 경과 후 고속 원심분리기를 사용하여 3,500rpm에서 30분간 원심 분리하여 시료의 층 분리 현상을 관찰하였으나 마이크로에멀전 시료 A~D에서 분리 현상은 나타나지

않았다. 또한 각 시료들에 대한 안정도 투입 후의 투광도 측정 결과를 Fig. 1~ 3에 나타내었는데, 각 그림에서와 같이 안정성이 우수한 마이크로에멀전이 형성됨을 알 수 있었다.

Table 2. Stability of Microemulsion Containing Isoflavone

Sample	Date	1 day	15 days	30 days
A		◎	◎	◎
B		◎	◎	◎
C		◎	◎	◎
D		◎	◎	◎

※ ◎ : Stable(Non-Separation)

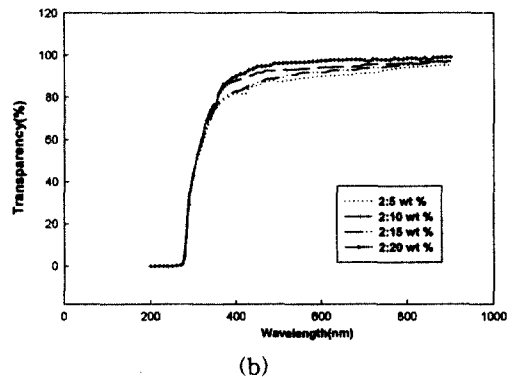
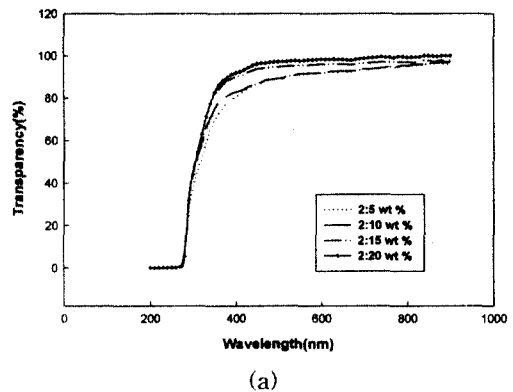


Fig. 1. Transparency of O/W microemulsions after centrifugation at 3,500 rpm (LP : POE(20) monostearate). (a) before centrifugation, (b) after centrifugation

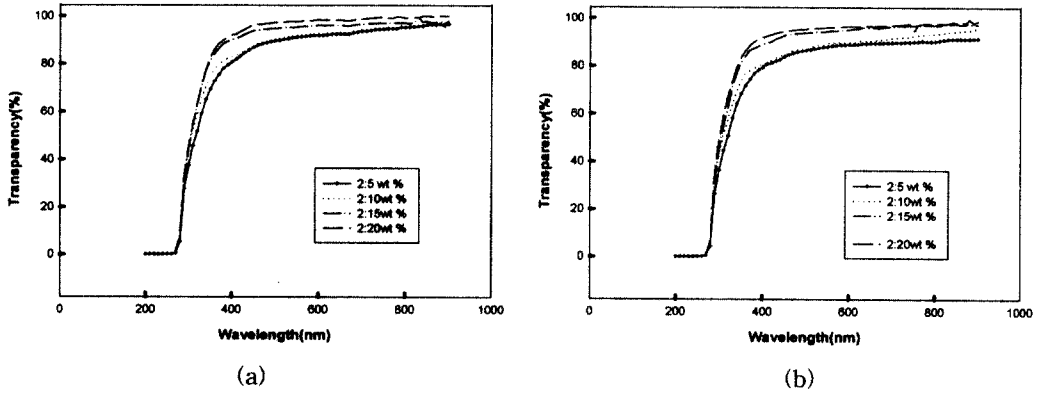


Fig. 2. Transparency of O/W microemulsions at 25°C (LP : POE(20) monostearate). (a) after 1 day, (b) after 30 days

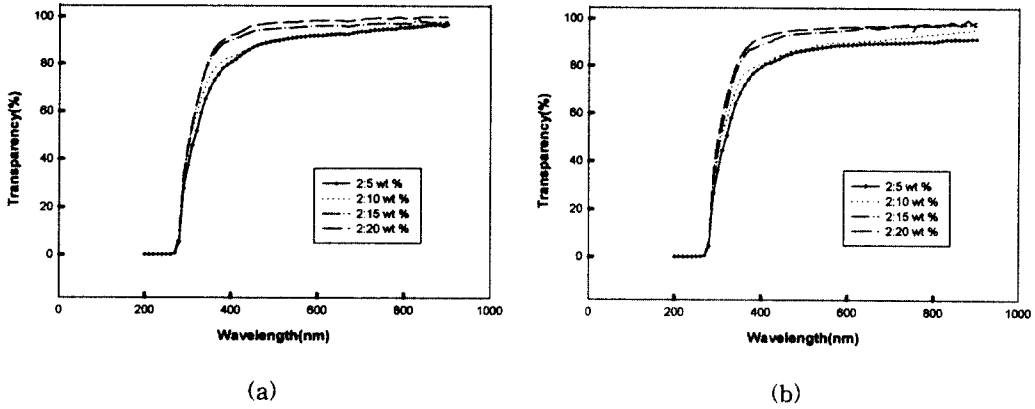


Fig. 3. Transparency of O/W microemulsions stored in circulation chamber. (a) after 1 day, (b) after 15 days

3.2. 피부 탄력성 측정

피부 탄력도 측정기를 사용하여 측정한 결과를 Table 3과 Fig. 4에 나타내었는데, 각 시료 조건에서 피부 탄력 지수(Ur/Ue)를 확인한 결과, 일반 피부에 비해 이소플라본을 함유한 마이크로에멀전을 도포한 피부의 탄성도가 7.6%의 개선되는 것으로 나타났다. Fig. 5 ~ 7은 콜라겐 I, 콜라겐 III, 피브로넥틴 등의 합성 증가 정도를 전자현미경으로 관찰한 결과를 나타낸

것이다. 즉 이소플라본을 함유한 O/W형태의 마이크로에멀전이 콜라겐 I, 콜라겐 III, 피브로넥틴 등의 피부 진피 부분 섬유아세포의 단백질류 합성에 효과적으로 참여하여 손상되거나 분해되어 탄력이 저하된 노쇠한 피부 세포에 작용하여 치료 작용을 촉진시킴에 따라 노화방지용 기능성 화장품용 제재로서의 응용 가능성을 기대할 수 있다.

Table 3. The Skin Flexibility for Microemulsion Containing Isoflavone

	Treatment Volume (mg/cm ²)	Immediate Extensibility (Ue)	Immediate Retraction (Ur)	Skin Flexibility (Ur/Ue)
A	0.0	1.06	0.64	0.604
B	0.3	2.08	1.36	0.654
C	0.5	2.12	1.40	0.660
D	0.7	2.13	1.45	0.680

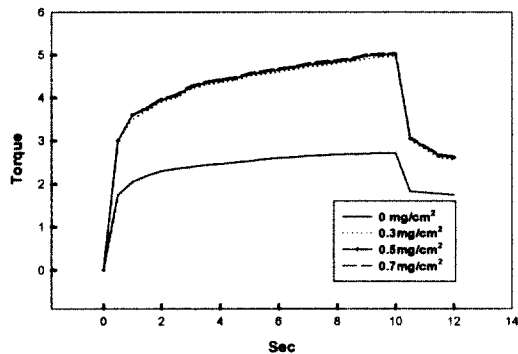


Fig. 4. Elastic properties of the skin with O/W microemulsion containing isoflavone.

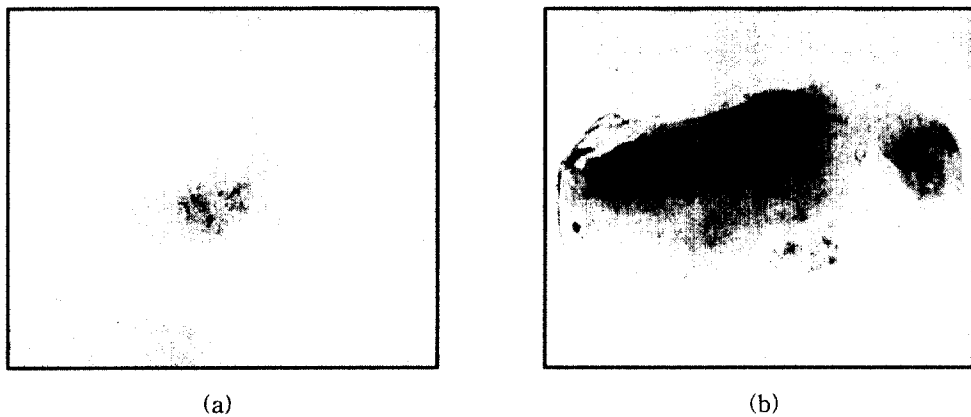


Fig. 5. Activity of isoflavone contained microemulsion on the synthesis of collagen I by fibroblastes in culture.
 (a) control fibloblastes, (b) isoflavone contained microemulsion during 2 hours

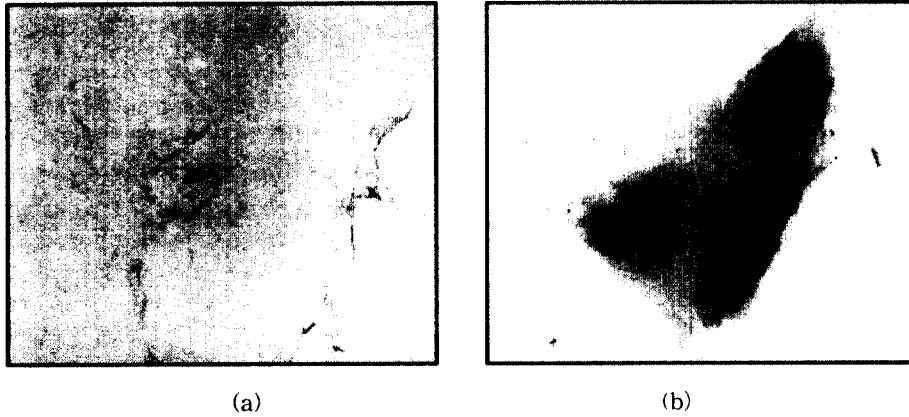


Fig. 6. Activity of isoflavone contained microemulsion on the synthesis of collagen III collagen III by fibroblastes in culture.
 (a) control fibloblastes, (b) isoflavone contained microemulsion during 2 hours

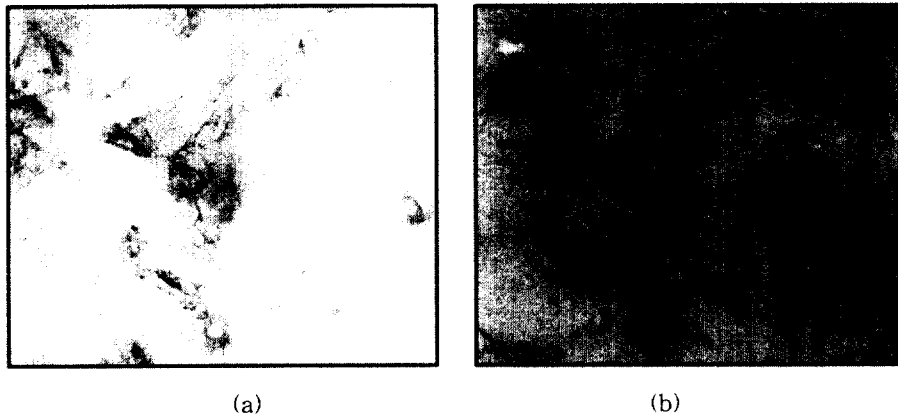


Fig. 7. Activity of isoflavone contained microemulsion on the synthesis of fibronectine fibronectine by fibloblastes in culture.
 (a) control fibloblastes, (b) isoflavone contained microemulsion during 2 hours

4. 결론

본 연구는 피부 생리 활성화 효과가 있고 동물성 호르몬과 유사한 화학 구조를 갖는 이소플라본을 함유하는 마이크로에멀전의 제형 연구를 통해, 보다 효과적으로 피부에 흡수가 될 수 있으며 경시 안정성이 우수한 유화입자의 제조로 노화방지용 기능성 화장품용 제재로서의 기본적인 응용 가능성을 평가하고자 하였으며, 그 결

과는 다음과 같다.

1. 각기 다른 HLB값을 갖는 유사한 구조의 비이온성 계면활성제류인 폴리옥시에틸렌 계열의 유화제를 사용하여 제조한 마이크로에멀전의 경시 및 온도안정성 여부를 확인한 결과, 15일, 30일 경과 후에도 시료 모두 상 분리 현상이 없는 맑고 투명한 상태의 안정한 마이크로에멀전이 유지됨을 알 수 있었다.

2. 이소플라본을 함유한 마이크로에멀전으로서 30일 경과 후의 고속 원심분리기에 의한 시료의 층 분리 현상을 관찰한 결과, 전체 시료에서 분리 현상은 나타나지 않았으며, 각 시료들에 대한 투광도 측정 결과에서도 우수한 안정성을 지닌 마이크로에멀전이 형성됨을 알 수 있었다.

3. 피부 탄력도 측정에 의한 각 시료 조건에서의 피부 탄력 지수(Ur/Ur)를 확인한 결과, 일반 피부에 비해 이소플라본을 함유한 마이크로에멀전을 도포한 피부의 탄성도가 7.6% 개선되는 효과를 얻었다.

4. 전자현미경 관찰 결과, 이소플라본을 함유한 O/W 마이크로에멀전이 손상되거나 분해되어 탄력이 저하된 노쇠한 피부 세포에 효과적으로 작용하여 치료 작용을 촉진시키는 것이 확인됨으로써, 앞으로 노화방지용 기능성 화장품용 제재로서의 응용 가능성이 기대된다.

참고문헌

1. E. Heftmann, S·T Ko, and R. D. Bennett, *Phytochem*, **5**, 133 (1966).
2. A. M. Gawinski and C. C. Gibbs, "Identification of Cholesterol and Progesterone in Apple Steroids", **12**, 545 (1968).
3. R. Watcher, B. Salka, and A. Magnet, *Journal of C & T*, **110**, 72, 6 (1995).
4. A. M. Gawinski and C. C. Gibbs, *Phytochemistry*, **8**, 685 (1969).
5. H. N. Bhargava, A. Narurkar, and L. M. Lieb, *Pharmaceutical Technology*, March, 46 (1987).
6. M. R. Gasco, F. Pattarino, and F. Lattanzi, *Int. J. Pharm.*, **62**, 119 (1990).
7. M. J. Schick, "Nonionic Surfactants-Physical Chemistry", pp. 109, Marcel Dekker, Inc., New York and Basel (1983).
8. N. H. Jeong, Y. J. Moon, H. W. Lee, and H. S. Kim, *J. Kor. Oil Chem. Soc.*, **19**, 56 (2002).