

비스에칠헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진(BEMT)을 봉입한 고형지질나노입자(Solid Lipid Nano-particle)의 화장품 응용

이근수[†] · 이동환 · 표형배 · 최태부*

한불화장품(주) 기술연구소, *건국대학교 생물화학공학부
(2007년 10월 9일 접수, 2007년 10월 20일 채택)

Cosmetic Application of Bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine (BEMT) Loaded Solid Lipid Nano-particle (SLN)

Geun-Soo Lee[†], Dong-WHan Lee, Hyeung-Bae Pyo, and Tae-Boo Choi*

Hanbul Cosmetic Co., R&D center, 72-7, Yongsung-ri, Umsung-gun, Chungbuk 369-834, Korea

*Section of chemical and biological engineering, KonkukUniversity

(Received October 9, 2007; Accepted October 20, 2007)

요약: 비스에칠헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진(Bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine; BEMT)은 식품의약품안전청 고시 기능성 원료로 자외선 차단 제품에 널리 사용되는 UVA와 UVB의 화학적 자외선 흡수제이다. 그러나 BEMT는 실제 적용에 있어 여러 가지 결점이 있어 사용이 제한되고 있다. 본 연구의 목적은 BEMT가 적용된 고형지질나노입자(BEMT-SLN)의 자외선차단제품 응용에 있다. 제조된 고형지질나노입자의 입도는 약 330 nm, 봉입율은 93.3 %, 결정화지표는 4.3 %였다. *In vitro* 방출 및 투과 실험 결과에서, BEMT는 SLN보다 O/W 에멀전이 대체로 높았다. *In vivo* 실험에서 SLN의 BEMT 방출비는 80 % 감소하였다. 또한 *in vitro* UV 방어 효과 실험에서 SLN이 적용된 처방의 자외선방어지수(SPF) 값은 약 2.5배 증가하였다. 결국 SLN은 BEMT를 효과적으로 봉입하고 있었으며, 자외선 차단 상승 효과를 나타낸다.

Abstract: Bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine (BEMT) is one of the most widely used chemical UVA + UVB double absorbers in sunscreen products. But topical application of BEMT is restricted due to its defects in product. The purpose of this study is to adopt the sunscreen product of solid lipid nano-particles containing BEMT (BEMT-SLN). The particle diameters, the encapsulation efficiencies and the crystallization index (C.I.) are about 330 nm, 93.3 % and the 4.3 %. As a result, *in vitro* penetration and release of BEMT were generally higher in O/W emulsion than the SLN formulation. However *in vivo* study, it was shown that the rate of release could be decreased by 80 % in the SLN formulation. The sun protection factor (SPF) of the SLN formulation increased by 100 % in the *in vitro* UV protection test. Therefore, SLN formulation potentiated the UV-blocking power of BEMT. This study suggest that SLN can be used for the encapsulation of BEMT.

Keywords: SLN, Bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine, penetration, release, UV-blocking

1. 서 론

인체에 유해한 자외선의 경우, UVB는 대부분 표피에서 흡수되어 sunburn과 피부암을 유발시키고, UVA는 긴 파장의 광선으로 에너지는 약하지만 피부의 진피층까지 깊숙이 침투하여 각질형성세포의 멜라닌을 침착시켜 피부

를 흑화시키고 콜라겐과 엘라스틴을 변형시켜 탄력을 감소시킴으로써 장시간 노출 시 피부 노화의 원인이 된다 [1-3]. Lorraine (1994)은 UVA를 일정 강도로 조사 후, UVA 차단제인 아보벤존이 함유된 자외선 차단 화장품을 이용한 동물 실험에서 피부 섬유아세포의 손상 방어 효과를 확인하였다[4]. 최근에 colloidal 전달체를 기반으로 하는 국소 및 피부학적인 처방 개발에 대한 노력이 지속되고 있다. SLN 분산물은 새로운 형태의 colloidal drug

[†] 주 저자 (e-mail: bluewin2@chol.com)

career system으로 최근 들어 광범위한 적용이 연구되고 있다. SLN 입자는 기존의 리포솜과 에멀전이 갖고 있는 막안정성과 약물의 농도 구배 문제를 해결하였다[5-7]. 이 체계는 수상에 나노 크기를 갖는 구형의 생체 친화형 고형 지질(지방산 또는 왁스)이 분산되어 있는 형태로 그 안에 지용성 약물을 담지하고 있다. SLN의 고형 지질 기반은 약물의 서방성을 유지하고 광화학적인 분해로부터 봉입된 약물을 안정화시킬 수 있다[8,9]. SLN의 장점을 정리해 보면 1) 봉입 약물의 방출 조절 2) 난용성 약물의 용해도 개선 3) 외기로부터 약물 보호 4) 구조체 지질의 낮은 독성 5) 제조 공정에서 유기용매 사용 배제 6) 적은 계면활성제의 사용량 7) 높은 봉입 효율 7) 용이한 scale up 등을 통한 경제성을 들 수 있다. 일반적으로 생리활성 물질의 효과를 높이기 위해 약물의 경피흡수촉진 방법으로 여러 가지 물리, 화학적인 방법(리포솜, 나노캡슐, 약물의 양친매적인 분자 구조 등)을 이용하지만 자외선차단제의 경우, 약물의 원활한 피부 투과와 햇빛에 대한 노출은 자외선 차단능력의 저하, 광알러지, 광독성, 피부자극 등의 원인이 되므로 이와는 상반된 접근이 필요하다. 화학적 자외선 흡수제의 최대 자외선 흡수 파장(λ_{max})은 자외선 흡수제와 적용 제형 간 pH 값의 영향과 극성 또는 비극성 용매의 사용에 따른 shift 효과 그리고 자외선 흡수제 고유의 흡수계수(extinction coefficient) 등에 의해 바뀌고 자외선 차단 효과에 영향을 준다[9]. 따라서 자외선 흡수제에 적절한 약물전달시스템을 도입하여 이러한 단점들을 개선시키는 것은 바람직하다. 본 연구에서 적용한 BEMT의 경우, 상대적으로 넓은 자외선 흡수 영역(280 ~ 390 nm)을 갖고 있는 자외선차단제로 UVA와 UVB를 동시에 효과적으로 차단하는 장점을 가지고 있다. SLN을 이용한 전달 체계는 피부에서 약물의 방출조절 특성과 폐색 작용(occlusive effect) 그리고 입자 자체의 물리적 자외선 차단 능력뿐만 아니라 제형 적용 시 발생할 수 있는 자외선 흡수제의 물성 변화로부터 벗어날 수 있어 새로운 자외선 차단 체계(UV-blocking system)로 잠재력이 있다.

따라서 본 연구의 목적은 고형지질(solid lipid)을 이용하여 자외선차단제인 BEMT를 봉입시킨 BEMT-SLN을 만들고 화장품에 적용하여 자외선 차단 효과 및 경피 흡수 거동을 통해 자외선 차단 기능성 제품으로 응용가능성을 검토하는데 있다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 실험재료 및 방법

SLN의 제조에는 봉입약물인 BEMT (Tinosorb-S, CIBA, Swiss, 식품의약품안전청 고시 2004-80호)과 유화제로 수

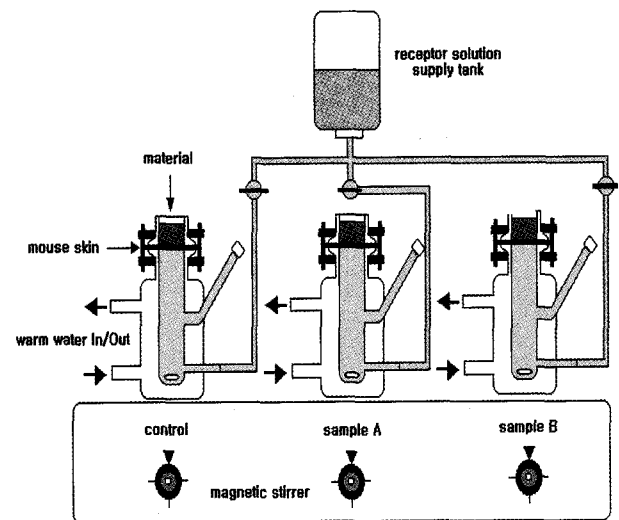


Figure 1. Verticality transdermal permeation system.

첨된 대두 레시친(phosphatidyl choline 함량 67 ~ 71 %, lipid S-75, LIPOID, Germany) 그리고 담체 지질로 용점이 52 ~ 56 °C인 세틸 팔미테이트(Amreps PC, Kokyu alcohol, Japan)를 사용하였다. 그 외 사용된 C12-15 알킬벤조에이트(Finsolv-TN, Fintex, USA), 아크릴레이트/C10-30 알킬아크릴레이트 크로스폴리머(Permulen TR-2, BF Goodrich, USA), 글리세린, 부틸렌글라이콜 등은 화장품 등급의 원료를 사용하였다. SLN의 제조는 유체종과 Dr. Ruckmani의 방법을 참고로 하였다. 지질 및 봉입 약물의 총 함량은 4 wt%로 고정하였다[10,11].

2.2. BEMT 봉입 SLN의 *in vitro* 방출 및 경피 흡수 실험

SLN의 방출 거동은 200 mL의 25 wt% 테트라하이드로푸란 수용액이 들어있는 유리병에 100 mg의 BEMT가 봉입되어 있는 SLN을 투입하고 실온(25 ± 1 °C)에서 magnetic bar로 일정하게 교반하면서 30, 60, 120, 240, 360, 480 min 간격으로 채취하여 방출된 BEMT 함량을 HPLC를 이용하여 정량하였다.

그리고 생체막을 이용한 *in vitro* 경피 흡수 실험은, 경피흡수장치로 수직형의 Keshary-chien diffusion cell에 3 주령된 수컷마우스 피부부를 제모 후 적출하여 생체막으로 사용하였다(Figure 1). 수용체의 phosphate buffer solution (PBS, pH 7.4 ± 0.2)에 BEMT의 용해도를 증가시켜주는 폴리솔베이트 80 1 wt%를 용해하여 사용하였으며, 실온에서 외부상은 37 ± 0.5 °C로 온도를 유지하여 체온과 동일한 상태를 유지하도록 하였고 내부상은 magnetic bar로 일정하게 교반하였다. 수용체와 접촉하는 생체막의 면적은 2 cm²이며 두께는 약 0.5 mm, 수용체의

Table 1. Formulations of Product Containing BEMT

Composition	Control Sample A (%, w/w)	Experiment Sample B (%, w/w)
Phenonip	0.30	0.30
Acrylates/C10-30 alkyl acrylate cross polymer	0.14	0.14
Butylene glycol	10.00	5.00
C12-15 alkyl Benzoate	10.00	-
Polysorbate60	1.00	-
Sorbitan oleate	0.30	-
BEMT	1.00	-
TEA	0.14	-
SLN [contain 4 wt% BEMT]	-	25.00
Purified water	q.s to 100	

용량은 5 mL이다. 실험 시료는 Table 6의 시료 A와 시료 B를 사용하였다. 0.9 mL의 시료를 각각의 경피흡수 장치의 생체막 표면에 투여하고 30, 60, 120, 240, 480 min 간격으로 투과된 BEMT의 양을 HPLC를 이용하여 정량하였다. 그리고 24 h 경과 후, 생체막을 에탄올과 정제수로 수세하여 생체막 표면에 남아 있는 BEMT를 제거한 다음 열풍기로 건조한다. 건조된 생체막을 80 wt% 테트라하이드로퓨란 수용액에 넣고 20 min 동안 초음파 분쇄 후 HPLC를 이용하여 피부에 누적 흡수된 BEMT의 함량을 정량한다.

2.3. BEMT 봉입 SLN의 *in vivo* 경피 흡수 실험; Tape Stripping Method

Tape stripping 실험은 Wissing (2002)의 방법을 참고로 하였다. 건강한 남녀 5명(30 ~ 40세)을 향한 항습실(25 °C, 상대습도 40 %)에서 30 min 동안 상주시켜 피부 상태를 안정화시킨 후 2.5 cm × 5 cm 면적에 Table 1의 대조군(시료 A)과 실험군(시료 B)을 각각 0.5 mL 도포한다(약 4.5 mg/cm²). 도포 50 min 후 도포면을 화장솜과 70 vol% 에탄올로 닦아내고 열풍기로 건조한다. 건조된 피부 표면을 스카치 테이프를 이용하여 7회 스트리핑한다. 스트리핑한 스카치 테이프를 80 wt% 테트라하이드로퓨란 수용액에 넣어 30 min 동안 초음파 처리한 다음 HPLC를 이용하여 BEMT의 함량을 정량하였다[12].

2.4. Human Dermal Fibroblast (HDFs)를 이용한 세포 손상 방어 효과 실험

Human dermal fibroblast (HDFs)를 이용한 자외선 방어 효과 실험은 심관섭(2005)의 방법을 참고로 하였다.

HDFs를 1.5×10^5 cell/mL의 농도로 35 Φ plate에 깔고 약 80 %의 confluency에 도달할 때까지 배양한다. UV 조사 전 배양배지를 제거한 후 PBS로 세척하여 배지 내 serum을 제거한다. 그리고 나서 plate 위에 Table 1의 시료 A와 시료 B를 0.4 mL 취하고 어플리케이터를 이용하여 0.04 mm 두께로 균일하게 도말한 석영판(100 mm × 100 mm × 30 mm)을 덮고 자외선을 10 min 동안 조사한다. UVB 광원은 Sankyo denky G6T5E (Sankyo Co. Japan)를 사용하였으며 자외선 조사 강도는 50 mJ/cm²으로 하였다. 대조군 세포는 자외선 조사를 하지 않았다. 자외선 조사 후, 각각의 세포 손상 정도를 위상차 현미경으로 관찰하였다[13]. 또한 세포생존을 실험은 Table 1의 시료 A와 시료 B를 0.4 mL 취하고 어플리케이터를 이용하여 0.04 mm 두께로 균일하게 도말한 석영판(100 mm × 100 mm × 30 mm)을 덮고 UVB를 50 mJ/cm²의 세기로 10 min 조사 24 h 후, 배지를 제거하고 각 well당 500 μ L 새 배지와 60 μ L MTT용액을 넣은 후 2 h 동안 37 °C CO₂ 배양기에서 배양하였다. DMSO로 세포를 용해시키고 각각을 100 μ L씩 96 well plate에 옮긴다. ELISA reader로 565 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 세포 생존율을 비교하였다.

2.5. BEMT 봉입 SLN의 *in vitro* 자외선 차단 효과 실험

In vitro SPF (자외선차단지수) 및 PA (홍반지수) 값의 측정에는 Optometrics사의 SPF 290 Analyzer (USA)를 이용하였다. 광원은 Xenone arc lamp를 사용하였으며 측정 파장 영역은 290 ~ 400 nm이다. 측정 방법은 안성연(2004)의 방법을 참고하였다. 시료 holder에 석영판(100 mm × 100 mm × 30 mm)을 부착시킨 후 Table 1의 시료 A와 시료 B를 각각 0.2 mL 취하고 어플리케이터를 이용하여 0.04 mm 두께로 균일하게 도포한다. 1개 plate에서 2회 측정 시마다 위치를 바꾸어 총 6회 scan하였다[14].

3. 실험결과 및 고찰

3.1. 제조된 고형지질나노입자(SLN)의 물리적 특성

약물의 경피 흡수 거동 및 효능, 효과를 실험하기 위해 준비한 BEMT 4 wt%가 봉입된 BEMT-SLN의 봉입율은 93.3 %, 입도는 330 nm이었다. 그리고 BEMT-SLN 분산물의 결정화 지표값(Crystallization Index value; C.I.)은 4.3 %로 분산계 내에서 semi-solid 상태의 구조체를 형성하고 있었다.

3.2. SLN에서 BEMT의 *in vitro* 방출 및 경피 흡수

약물은 에멀전 처방에서 오일 상태의 액체 특성을 지

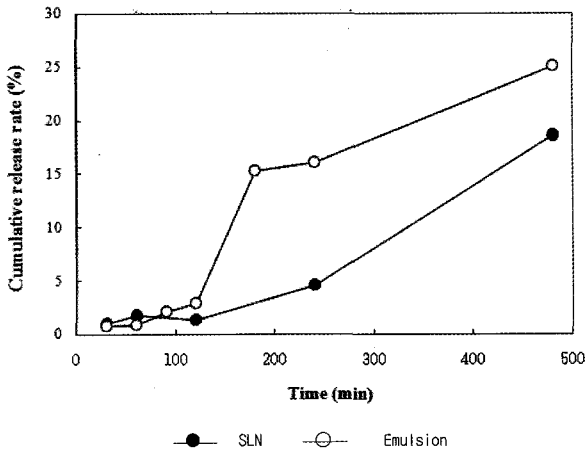


Figure 2. *In vitro* release of Franz diffusion cell; the BEMT release profiles of SLN and emulsion. Emulsion : contain raw BEMT, SLN : Permulen gel contained SLN formulation.

Table 2. *In vitro* Franz Diffusion Cell Test; Penetration of BEMT into the Stratum Corneum from Emulsion and SLN Formulation after 24 h

	Emulsion	SLN
Application amount ($\mu\text{g/mL}$)	761.3	839.5
Cumulative transdermal absorption amount (μg)	13.94	4.1
Transdermal penetration amount ($\mu\text{g/mL}$)	N/D	N/D

너 방출이 원활하지만 drug enriched core 형태의 SLN에서는 방출량이 감소한다[15,16]. Figure 2를 보면, 8 h 후 SLN에서 생체막을 통한 BEMT의 누적경피흡수량은 약 18 %로 25 %인 에멀전에 비하여 약물의 흡수가 에멀전보다 작았다(Figure 2). 그리고 에멀전 및 SLN를 도포하여 생체막에 누적되는 약물의 총흡수량을 실험한 결과, 도포 24 h 후 BEMT의 피부누적흡수량은 에멀전은 13.94 μg 인 반면에 SLN은 4.1 μg 으로 낮아 피부 투과가 감소하였다. 이러한 양상은 SLN의 *in vitro* 방출 실험 결과와도 일치하며 피부 표면에 BEMT의 잔류량이 에멀전보다 많다는 것을 의미한다(Table 2). 이것은 피부 표면에서 상대적으로 높은 자외선차단제의 농도를 유지시키며 결국 자외선 차단 지수의 상승을 유도한다.

또한 membrane free model 방출 실험에서, SLN은 생체막을 이용한 실험에서와 마찬가지로 BEMT를 느리고 지속적으로 방출하였다. 8 h 후 SLN은 BEMT를 약 22 % 방출하였다(Figure 3). 이러한 약물의 방출 양상은 약물과 지질간의 융점 차이에 의해 조절된다. BEMT의 경

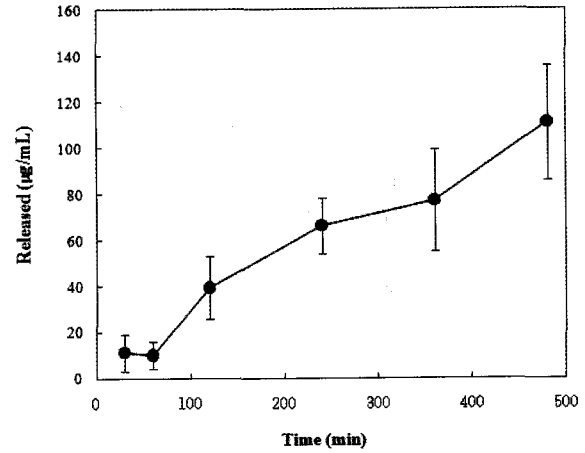


Figure 3. *In vitro* release of membrane free model; The BEMT release profile of SLN formulation. SD bars for (n = 3) are given.

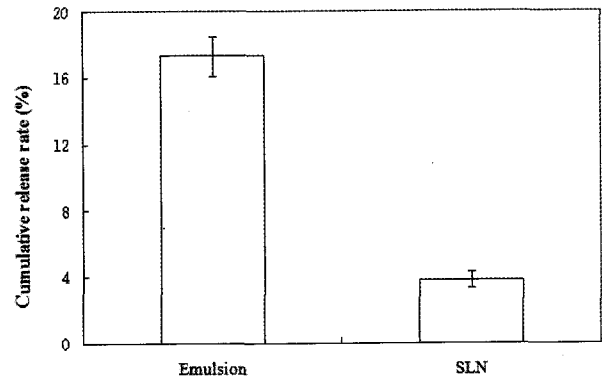


Figure 4. *In vivo* tape stripping test; Penetration of BEMT into the stratum corneum from emulsion and SLN formulation after 50 min application time. SD bars for (n = 3) are given. Emulsion : contain raw BEMT, SLN : Permulen gel contained SLN formulation.

우, 세틸팔미테이트보다 융점이 높아 lipid crystal의 외부가 아닌 내부에서 drug core를 형성함으로써 초기의 빠른 용출 양상을 보이지 않고 서방성을 보였다.

3.3. SLN에서 BEMT의 *in vivo* 경피 흡수

피부에서 SLN 형태의 구조체는 약물을 피부 표면에 고정시키고 투과를 지연시켜 국부적인 광독성 및 광알러지의 발생을 예방한다. Tape stripping method는 *in vivo* 상에서 약물의 피부 투과를 실험하기 위한 유용한 방법이다. Figure 4를 보면 SLN에 봉입한 BEMT의 총 투과비는 에멀전에 비하여 4배 이상 감소하여 피부 표면에 BEMT가 투과하지 않고 남아 피부에서 SLN 형태의 얇은 필름을 형성하고 있음을 알 수 있다. 이러한 투과 양

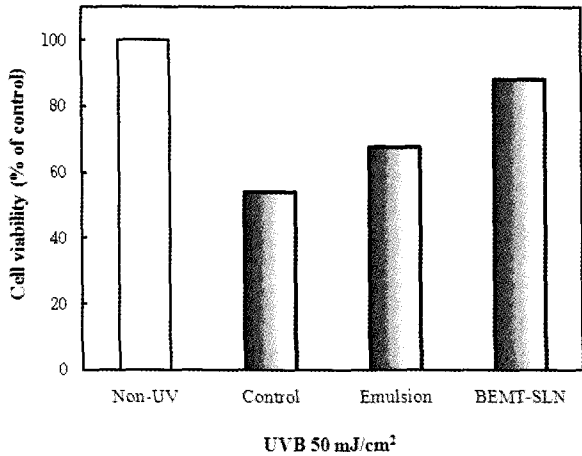


Figure 5. Protective effect of BEMT-SLN in UVB-irradiated Human dermal fibroblast (HDFs).

상은 Franz diffusion cell을 이용한 *in vitro* 방출 실험 결과와도 동일하였다.

결국, SLN 구조체는 BEMT의 경피흡수를 효과적으로 지연시켜 막아 약물을 차폐하고 있었으며 이러한 SLN의 차폐 효과는 지질의 결정화특성 및 BEMT의 안정성을 개선시키고 제품에 적용 시, 피부에서 BEMT의 방출 조절에 관여하여 피부 표면에 장시간 자외선 차단제를 유지시킨다.

3.4. 자외선 조사에 의한 세포 손상 방어

사람진피세포(HDFs)에 자외선을 조사 후 일어나는 광손상을 살펴보고, 이러한 광손상에 대하여 SLN이 어떠한 영향을 주는지 알아보았다. UVB 50 mJ/cm²을 처리한 후 세포생존율을 측정된 결과 자외선을 조사하지 않은 세포군(100 % 세포생존율)에 비해 54 % 정도로 세포생존율이 떨어졌다. 에멀전을 도달한 경우 67 % 정도로 세포생존율이 조금 향상되었으며, SLN을 도달한 경우는 세포생존율이 88 % 이상으로 나타나 효과적으로 자외선 흡수막을 형성하였다(Figure 5).

그리고 광학 현미경으로 HDFs의 형태 변화를 관찰한 실험 결과에서, UVB를 50 mJ/cm²의 강도로 조사한 대조군은 현저한 HDFs의 손상이 관찰되었으나 에멀전 또는 SLN을 도달한 실험군은 세포 손상이 적었다. 특히 SLN을 적용한 시료의 경우, 자외선에 의한 세포 손상이 에멀전 보다 상대적으로 적었다(Figure 6). 그 이유는 SLN 구조체가 BEMT를 나노 크기로 얇고 조밀하게 도포하여 자외선에 대한 차폐율을 높였기 때문이다.

Table 3. *In vitro* UV Protection Results of Sun Screen Product. Sample A : Emulsion Contained Raw BEMT, Sample B : Permulen Gel Contained SLN Formulation

	Solar protection factor (SPF)	Erythema UVA protection factor	UVA/UVB ratio
Sample A	4.63 ± 0.21	4.84 ± 0.19	0.976 ± 0.01
Sample B	12.71 ± 0.58	11.46 ± 0.44	0.899 ± 0

3.5. *In vitro* 자외선 차단

화학적 자외선 흡수제로 벤조페논-3와 옥시벤존을 지질에 봉입한 결과, 에멀전에 비해 2배 높은 자외선 차단 효과가 나타난다[17,18].

본 연구에서는 BEMT가 함유된 에멀전과 BEMT-SLN 분산물을 이용하여 *in vitro* 상에서 자외선 방어 지수값(SPF value) 및 홍반지수(PFA)의 변화를 측정하였다. SLN 분산물의 경우, 에멀전에 비해 SPF 및 PA값이 12.71과 11.46으로 약 2.5배 가량 높았다(Table 3). 이는 나노 크기의 SLN이 측정 트레이에 고르고 균일하게 도포되어 자외선에 대하여 분산 및 반사 그리고 흡수 작용을 하기 때문인 것으로 생각된다.

UVA/UVB ratio가 0.6 ~ 1의 범위에서 UVA와 UVB의 이중 흡수 영역을 갖는다[19]. 본 연구에서 실험 A와 B의 UVA/UVB ratio는 약 0.9 ~ 0.98로 나타났으며, 이러한 결과를 통해 고형지질인 세틸팔미테이트를 이용하여 BEMT를 봉입하여도 자외선 흡수제의 고유한 흡수 특성은 변하지 않음을 알 수 있다.

따라서 BEMT-SLN을 적용한 자외선 차단 화장품은 UVA와 UVB를 동시에 효과적으로 차단해주는 자외선 차단 체계(UV filter system)를 갖고 있었다.

4. 결 론

본 연구에서는 고형지질을 활용한 담체화 (SLN) 기술을 이용하여 화학적 자외선 흡수제인 BEMT를 봉입하여 화장품 응용에 대한 연구를 하였다.

BEMT를 고형지질로 처리한 SLN은 스스로 물리적 자외선 차단제로 작용하였으며, 약물 조절 체계로서 피부 표면에 BEMT를 장시간 유지시켜 BEMT 분자들의 국소적인 부작용을 줄여줄 수 있었다. 또한 자외선 차단 화장품에 적용 시, BEMT의 단점인 용해도 개선과 자외선 차단 지수 및 홍반지수의 상승을 통해 우수한 자외선 차단 효과를 얻을 수 있었다. 최근 안전성과 기능성이 겸비된 자외선 차단 제품에 대한 관심이 커지고 있는 시점에 있어, SLN의 이러한 장점들은 향후 기능성 자외선 차단 제품 개발 시 응용 가능성이 크다고 생각된다.

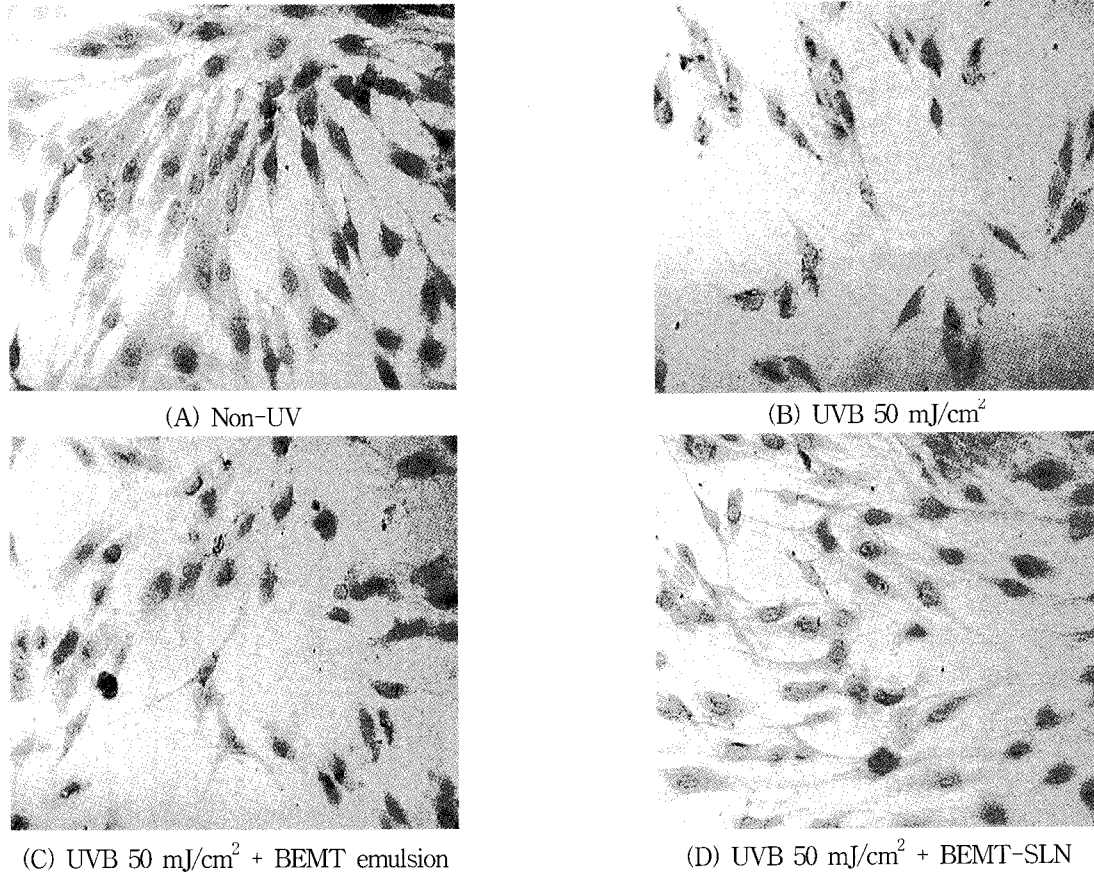


Figure 6. Phase-contrast microscopic observation of UVB by Trypan blue staining in cultured human dermal fibroblasts (HDFs). (A) HDFs in the absence of UVB exposure (B) HDFs exposed to UVB radiation (C) HDFs covered with BEMT emulsion, followed by treatment with UVB (D) HDFs covered with BEMT-SLN, followed by treatment with UVB. Phase-contrast microscope images were observed 100 magnifications.

참 고 문 헌

1. K. sato, A mechanism of UVA induced pigmentation and UVA protection, *SÖFW J.*, **7**, 12 (2007).
2. R. G. Christine, A. Edith, C. Monique, J. P. Ortonne, and B. Robert, Nitric oxide produced by ultraviolet-irradiated keratinocytes stimulates melanogenesis, *J. Clin. Invest.*, **99**(4), 635 (1997).
3. R. P. Stokesa and B. L. Diffey, *In vitro* assay of high SPF sunscreens, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **48**, 289 (1997).
4. H. L. Kligman and P. Zheng, The protective effect of a broad spectrum sunscreen against chronic UVA radiation in hairless mice: A histologic and ultrastructural assessment, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **45**, 21 (1994).
5. B. Magenheimer, M. Y. Levy, and S. Benita, A new *in vitro* technique for evaluation of drug release profile from colloidal carriers ultrafiltration technique at low pressure, *Int. J. Pharm.*, **91**, 115 (1993).
6. R. H. Müller, S. Maassen, C. Schwarz, and W. Mehnert, Solid lipid nano-particles (SLN) as potential carrier for human use: interaction with human granulocytes, *J. Control Release.*, **47**, 261 (1997).
7. R. H. Müller, M. Radtke, and S. A. Wissing, Solid lipid nano-particles (SLNs) and nano-structured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54**(1), 131 (2002).
8. T. Vringer and H. A. Ronde, Preparation and structure of a water in oil cream containing lipid nano-

- particles, *J. Pharm. Sci.*, **84**, 466 (1995).
9. N. A. Shaath, The chemistry of sunscreens, eds, N. J. Lowe and M. A. Pathak, Marcel Dekker, New York (1997).
 10. H. J. Yoo and K. S. Kim, Preparation and drug release profiles of solid lipid nano-particles (SLN), *J. Kor. Pharm. Sci.*, **26**(2), 125 (1996).
 11. K. Ruckmani. M. Sivakumar, and P. A. Ganeshkumar, Methorexate loaded Solid lipid nano-particles (SLN) for effective treatment of carcinoma, *J. Nanoscience and Nanotechnology*, **6**, 2991 (2006).
 12. S. A. Wissing and R. H. Müller, Solid lipid nano-particles as career for sunscreens: *In vitro* release and in vivo skin penetration, *J. Control Release*, **81**, 225 (2002).
 13. G. S. Sim. B. C. Lee, Y. H. Zhang, and H. B. Pyo, Anti-oxidative and inhibitory effect of Saussurea involucrata on MMP-1 in UVA-irradiated human dermal fibroblast, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **31**(4), 329 (2005).
 14. S. Y. Ahn, J. H. Bae, H. K. Lee, S. J. Moon, and I. S. Chang, Improvement of in vitro Sun Protection Factor Measurement, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **30**(1), 129 (2004).
 15. A. C. Watkinson, K. R. Brain, K. A. Waters, and J. Hadgraft, Prediction of percutaneous penetration of UV filters in sunscreen formulations, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **14**, 265 (1992).
 16. G. Yener, T. Incegül, and N. Yener, Importance of using solid lipid nano-particles as careers for UV filters on the example octylmethoxycinnamate, *Int. J. Pharm.*, **258**, 203 (2003).
 17. S. A. Wissing and R. H. Müller, Cosmetic applications for solid lipid nano-particles(SLN), *Int. J. Pharm.*, **254**, 65 (2003).
 18. S. A. Wissing and R. H. Müller, The development of an improved carrier system for sunscreen formulation based on crystalline lipid nano-particles, *Int. J. Pharm.*, **242**, 373 (2002).
 19. M. W. Anderson. J. P. Hewitt, and S. R. Spruce, *Sunscreens*, eds. N. J. Lowe and M. A. Pathak, 353, Marcel Dekker, New york (1997).