

비동물성 콜레스테릭 액정의 안정성과 보습효능에 관한 연구

우병영[†] · 민대진 · 백흥수 · 김신형 · 황준영 · 박영호 · 이준환 · 신송석[†]

(주)아모레퍼시픽 기술연구원

(2013년 10월 31일 접수, 2013년 11월 12일 수정, 2014년 1월 6일 채택)

A Study of the Stability and Moisturizing Effect of Non-Animal Cholesteric Liquid Crystal

Byoung Young Woo[†], Dae Jin Min, Heung Soo Baek, Shin Hyoung Kim, Joon Young Hwang,
Young Ho Park, John Hwan Lee, and Song Seok Shin[†]

Amorepacific Corporation R&D Center, 314-1, Bora-dong, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 446-729, Korea

(Received October 31, 2013; Revised November 12, 2013; Accepted January 6, 2014)

요약: 본 연구는 화장품 제형 적용성이 높은 콜레스테릭 액정 (CLCs) 개발에 관한 것이다. 비동물성 원료는 동물성 바이러스 감염 이슈로부터 자유롭고 화장품 소비자들에게 안심감을 줄 수 있기 때문에 비동물성 유래로부터 콜레스테릭 액정 연구를 진행하였다. 따라서 발효로부터 만들어진 비동물성 콜레스테롤 [NAB cholesterol (ARCH LONZA)]을 이용하여 3 가지 새로운 콜레스테릭 유도체 (CI, CC, CN)를 합성하였다. 그리고 제형 적용성이 높은 콜레스테릭 액정 개발을 위해서 넓은 온도범위에서 발색을 유지하는 최적 조성 연구를 진행하였다. 콜레스테릭 액정은 3 가지 유도체를 조합하여 41개의 액정을 제조하고 온도에 따른 육안평가를 통해서 색을 나타내는 범위를 평가하였다. 제조된 41개의 액정을 온도에 따라 UV-VIS 스펙트럼을 동시에 분석할 수 있는 새로운 평가법을 사용하였으며 205개의 스펙트럼 분석하고 액정에 영향을 미치는 인자와 특성을 파악하였다. 위와 같은 결과를 토대로 제형 적용성이 높은 비동물성 콜레스테릭 액정 A4, A5, A6, A7의 조성을 개발하였다. 또한 인공피부를 이용한 평가를 통하여 A6 조성의 뛰어난 피부 보습효능을 확인하였다.

Abstract: This study is about the development of cholesteric liquid crystals (CLCs), which are highly applicable to cosmetics formulation. The CLCs made from non-animal origin were chosen not only because they are free of animal viruses but also because they give a sense of security to the cosmetic consumers. Three kinds of new cholesteric derivatives (CI, CC, CN) were synthesized using non-animal cholesterol [NAB cholesterol (ARCH LONZA)], which was originally made by fermentation process. To develop high applicability to cosmetics formulation, we attempted to find out the optimum compositions in which CLCs can maintain their color over a wide range of temperature. The CLCs in 41 different compositions were prepared by the combinations of three cholesteric derivatives and a visual evaluation method was employed to determine the range of temperature at which the CLCs display their color. The 205 UV-VIS spectral data obtained from 41 CLCs at various temperatures were simultaneously analyzed to investigate the critical factors affecting the characteristics of the CLCs. Results showed that A4, A5, A6 and A7 were the best compositions to cosmetics formulation. A6 composition had a great moisturizing effect by the artificial skin test (AmoReSkin™).

Keywords: Cholesteric liquid crystal, Cholesteryl isostearate, Cholesteryl nonanoate, Cholesteryl chloride, moisturizer

[†] 주 저자 (e-mail: quddud@amorepacific.com, ssshin@amorepacific.com)

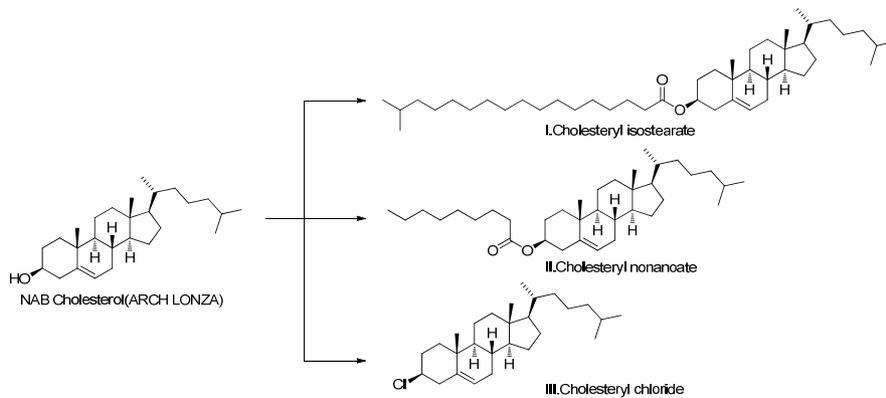


Figure 1. Structure of Cholesteryl Isostearate (I, CI), Cholesteryl Nonanoate (II, CN) and Cholesteryl Chloride (III, CC).

1. 서 론

액정(Liquid crystal)은 분자들이 향하는 방향에 질서가 있어 결정과 같지만 액체처럼 움직일 수 있다. 액정은 특정온도 이상에서는 방향의 질서도 없어져 순수한 액체가 되고, 온도가 내려가면서 방향에서의 질서가 생겨난다. 그리고 온도를 더욱 더 내리면 액체가 응고하는 것과 같이 위치의 이동도 없어지는 순수한 고체가 된다. 즉 순수 고체와 액체 사이의 중간단계를 액정이라 한다. 이러한 액정 중 콜레스테릭 액정(CLC)은 chiral nematics의 나선형 배열로 이루어진 것으로 디스플레이, 편광자, 유기 안료, 온도 측정 및 광소자 등 넓은 범위의 응용 가능성이 있는 액정이다 [1-5]. 이러한 응용성은 콜레스테릭 액정은 나선형 피치 길이(helical pitch lengths)에 선택적인 파장을 반사시켜 다양한 색을 보이게 하는 특성을 가지고 있기 때문이다[6-8]. 피치의 특성은 온도, 조성, 압력에 의존적으로 피치의 특성이 결정이 된다. 이러한 광학적 특성을 지닌 콜레스테릭 액정을 일상적인 대기압에서 온도와 농도 특성에 따른 연구를 통해서 화장품 조성료로 응용하고자 하였다. 콜레스테릭 액정은 비주열적으로 차별화할 수 있는 화장품 조성료로서 미적소구를 할 수 있는 매우 흥미로운 화장품 소재 중 하나이다. 또한 콜레스테릭 액정을 구성하고 있는 콜레스테릭 유도체는 피부유사구조를 하고 있어 피부친화성 보습효능을 기대할 수 있다[9]. 하지만 대부분 콜레스테릭 액정은 제형적용 시 낮은 온도에서 crystal phase로 전환이 되고 고온에서는 isotropic phase로 전환되는 경향성이 있어 화장품 제형 내에서 넓은 온도 범위 내

에서 색을 유지하는 데 어려움이 있다. 따라서 본 연구는 이러한 문제점을 개선하고자 넓은 온도범위에서 액정을 유지하며 저온 안정성이 높은 액정에 관한 연구를 하고자 하였다. 본 연구는 콜레스테릭 액정을 구성하는 3가지 유도체(Figure 1)를 발효 콜레스테롤 [NAB cholesterol (ARCH LONZA 사)]로부터 비동물성 콜레스테릭 유도체를 합성하고 액정제조 및 안정성 평가를 통해서 제형 적용성이 뛰어난 콜레스테릭 액정조성을 찾고자 하였다. 본 연구에서는 액정특성 평가를 위해 많은 수의 액정 실험군을 같은 조건에서 동시에 평가할 수 있는 분석법을 개발하여 액정 조합특성을 효율적으로 분석할 수 있는 시스템을 확보하였다. 따라서 효율적인 방법으로 많은 수의 데이터를 산출하고 가장 안정성이 높은 콜레스테릭 액정조성을 찾고 안정성이 뛰어난 액정에 대해서는 인공피부를 이용한 피부 보습 효능을 평가하였다.

2. 재료 및 시험

2.1. 시약

시험에 사용된 발효원료는 콜레스테롤[NAB cholesterol (ARCH LONZA 사)]을 사용하였으며 시약 isostearic acid, nonanoic acid, 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride EDCI, thionyl chloride, triethylamine, dichloromethane은 sigma-Aldrich Co.의 제품을 사용하였다.

2.2. 인공피부를 이용한 피부 보습 효능평가

2.2.1 세포 배양

신생아 유래 진피 섬유아세포(human neonatal dermal fibroblast, C-004-5C, Invitrogen, USA)와 신생아 유래 표피 각질형성세포(human neonatal epidermal keratinocyte, C-001-5C, Invitrogen, USA)는 invitrogen에서 구매하여 사용하였다. 섬유아세포는 low serum growth supplement (LSGS, Gibco, USA)와 penicillin-streptomycin (Lonza, USA)가 함유된 106배지(M106, Gibco, USA)에서 배양하였다. 섬유아세포는 계대배양을 진행하여 실험을 진행하였고 계대수 4 ~ 8사이의 세포를 실험에 사용하였다. 각질형성세포는 human keratinocyte growth supplement (HKGS, Gibco, USA)와 penicillin-streptomycin이 함유된 EpiLife 배지(Gibco, USA)에서 배양하였다. 각질형성세포는 계대배양을 진행하여 계대수가 2인 세포를 실험에 사용하였다. 세포들은 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

2.2.2 인공피부(AmoReSkin™) 제작

인공피부는 진피층위에 각질형성세포를 분주하고 배양하면서 분화를 유도한 후 공기노출 배양을 통해 각질층을 형성한다[10]. 먼저 섬유아세포가 들어있지 않은 진피층과 섬유아세포가 들어있는 진피층을 제작하였다. 섬유아세포가 포함되지 않는 진피층은 type I collagen solution (Sigma, USA)과 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (WelGENE, 한국), Ham's F-12 (Gibco, USA), NaHCO₃ (Sigma, USA)를 섞고 NaOH (Sigma, USA)로 중화시켜 제작하였다. 혼합액을 12-well culture insert (Corning, USA)에 분주하고 1 h 동안 37 °C 배양기에 넣고 중합시켰다. 섬유아세포가 포함된 진피층은 섬유아세포가 들어있지 않은 진피층에서 사용된 혼합액에 각 well 당 1.0 × 10⁴개의 세포가 들어갈 수 있도록 세포를 넣고 섬유아세포가 포함되지 않는 진피층위에 분주하여 37 °C 배양기에 넣고 2 h 동안 중합시켰다. 중합을 마친 진피층에 106배지를 넣어주고 이틀에 한 번씩 배지를 교환하며 일주일 간 배양했다. 각 well 당 2.0 × 10⁵개의 각질형성세포를 분주하고 7일 동안 배양했다. 이렇게 제작한 인공피부를 7일 동안 공기노출 배양을 진행한 후 실험에 사용하였다.

2.2.3 인공피부를 이용한 피부 보습 효능 평가

제작된 인공피부의 표면에 PBS에 0.1% 농도로 희석된 콜레스테릭 액정을 4일간 도포하고, 조직 면역형광염색 방법을 이용하여 피부 분화 및 보습 마커인 filaggrin의 발현을 관찰함으로써 콜레스테릭 액정의 피부 보습 효능을 평가하였다. 조직 면역형광염색의 세부 방법은 다음과 같다.

물질 처리가 끝난 인공피부는 OCT 용액을 이용하여 냉동표본을 제작하고, 10 μm 두께로 동결절편을 제작한 뒤에 면역형광염색을 진행하였다. 동결절편을 하루 동안 실온에서 건조시킨 후 PBS로 OCT 용액을 세척하여 제거했다. Blocking solution (1% BSA in PBS)을 30 min 동안 처리하여 항체의 비특이적 결합을 방지하였다. 인공피부 동결절편에서 filaggrin 단백질을 관찰하기 위해 anti-filaggrin 항체(Leica, USA)를 이용하여 표지하였으며 표지된 단백질은 Texas Red-X goat anti-mouse IgG (Invitrogen, USA) 항체와 공초점 현미경(LSM510, Carl-Zeiss, Germany)을 이용하여 관찰하였다.

2.3. 콜레스테릭 액정특성 평가

2.3.1. 삼성분계 조성 실험

5% 단위로 실험 각 실험영역의 point별 질량 측량 후 10 mL 투명유리 병 용기에 첨가하고 70 °C로 가열하여 용해시킨다. 용해된 물질을 약 10 s간 vortexing 후 25 °C에서 관찰한다.

2.3.2. CLC액정 clear point

각 삼성분계를 이용하여 제조된 액정을 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15 °C, 10, 5, 0, -4 °C에서 반사 빛을 육안분석을 통하여 측정한다.

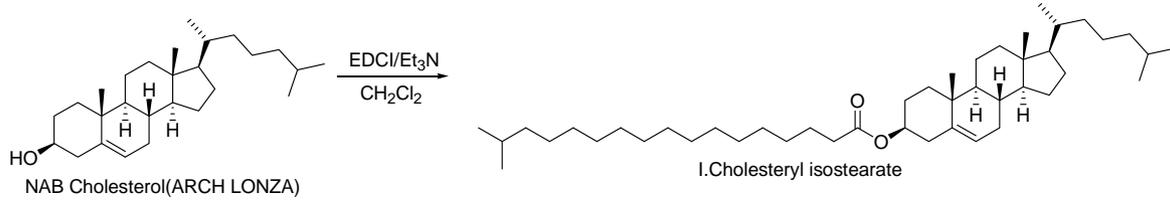
2.3.3. 액정 스펙트럼 측정

제조된 CLC액정 200 μL씩 분취하여 96 well black plate에 넣은 후 Flexstation 3를 이용하여 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C, 45 °C UV-VIS 스펙트럼을 측정한다.

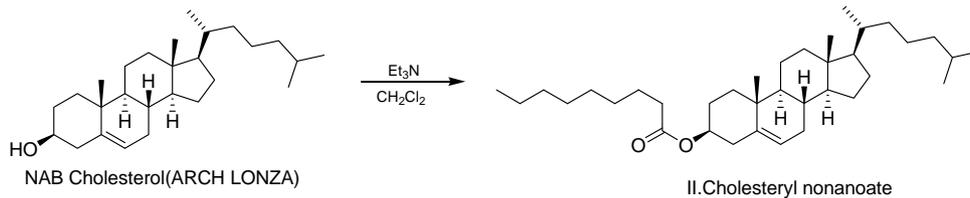
2.4. 콜레스테릴 유도체의 합성

2.4.1. Cholesteryl isostearate의 합성

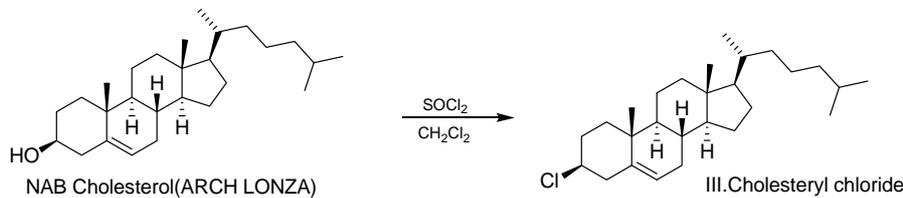
Cholesterol [NAB Cholesterol (ARCH LONZA 사)]



2.4.1. Cholesteryl isostearate의 합성



2.4.2. Cholesteryl nonanoate의 합성



2.4.3. Cholesteryl chloride의 합성

(100 g, 0.258 mol)과 isostearic acid (161 g, 0.568 mol)을 dichloromethane (1000 mL)에 녹이고 교반하면서 triethylamine (57.4 g, 0.568 mol)과 N-(3-dimethylamino-propyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (108.8 g, 0.568 mol) 첨가한 후 상온에서 12 h 동안 교반하였다. 교반한 혼합용액에 1 N HCl (1000 mL)와 물(1000 mL)로 세척 후 감압증류 한다. 그런 후 컬럼 크로마토그래피로 정제하고 진공건조 시켜 cholesteryl isostearate를 수율 81%로 얻었다.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ 5.37 (d, 1 H, $J=4.2$ Hz), 4.70 - 4.58 (m, 1 H), 2.32 - 2.24 (m, 4 H), 2.03 - 1.77 (m, 6 H), 1.68 - 1.47 (m, 12 H), 1.37 - 1.05 (m, 34 H), 1.02 (s, 3 H), 0.92 - 0.82 (m, 15 H), 0.67 (s, 3 H).

2.4.2. Cholesteryl nonanoate의 합성

Cholesterol [NAB cholesterol (ARCH LONZA 사)] (100 g, 0.258 mol)과 nonanoic acid (89.8 g, 0.568 mol)을 dichloromethane (1000 mL)에 녹이고 교반하면서 triethylamine (57.4 g, 0.568 mol)과 N-(3-dimethylaminopropyl)-

N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (108.8 g, 0.568 mol) 첨가한 후 상온에서 12 h 동안 교반하였다. 교반한 혼합용액에 1 N HCl (1000 mL)와 물(1000 mL)로 세척 후 감압증류 한다. 그런 후 에탄올로 재결정 후 cholesteryl nonanoate를 수율 85%로 얻었다.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ 5.37 (d, 1 H, $J=4.2$ Hz), 4.70 - 4.57 (m, 1 H), 2.32 - 2.17 (m, 4 H), 2.03 - 1.82 (m, 6 H), 1.63 - 1.47 (m, 12 H), 1.37 - 1.21 (m, 14 H), 1.17 - 1.05 (m, 5 H), 1.02 (s, 3 H), 0.92 - 0.82 (m, 12 H), 0.67 (s, 3 H).

2.4.3. Cholesteryl chloride의 합성

Cholesterol [NAB cholesterol (ARCH LONZA 사)] (100 g, 0.258 mol)을 dichloromethane (1000 mL)에 녹이고 교반하면서 DMF (10 mL)와 SOCl_2 (67.5 g, 0.568 mol)를 첨가한다. 그런 후 40 °C에서 12 h 동안 교반하였다. 교반한 혼합용액을 농축하고 에탄올로 재결정 후 cholesteryl chloride를 수율 65%로 얻었다.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ 5.37 (d, 1 H, $J=5.1$ Hz),

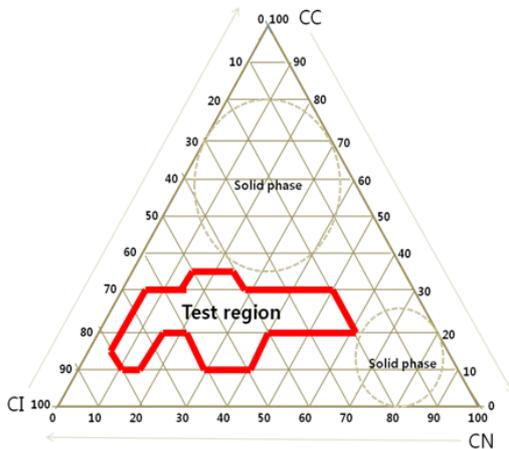


Figure 2. Test region (CI/CC/CN) of partial ternary phase diagram.

3.82 - 3.71 (m, 1 H), 2.61 - 2.44 (m, 2 H), 2.17 - 1.77 (m, 6 H), 1.62 - 1.20 (m, 12 H), 1.16 - 1.06 (m, 7 H), 1.03 (s, 3 H), 0.92 - 0.85 (m, 9 H), 0.67 (s, 3 H).

3. 결과 및 고찰

3.1. 삼성분계를 이용한 액정 제조

콜레스테릭 액정은 Smectic 액정과 같이 층상 구조를 형성하지만 장축의 분자는 면 내에서 Nematic 액정과 유사한 평행 배열을 하고 있다. 인접한 층 사이에서 분자 축의 배열 방위가 약간씩 벗어나 있는 형태이며 액정 전체로서는 나선(helical)구조를 하고 있다. 따라서 콜레스테릭 액정은 이러한 피치(pitch)의 길이에 따라서 선택적인 광 산란을 일으켜 가시영역 빛을 보이게 한다[11]. 이러한 특성은 기존 색소들과는 상이한 메카니즘으로 다양한 RGB계열의 파장을 반사하여 색이 보이는 것으로 화장품 조성료로 활용 가치가 높은 소재라고 말할 수 있다. 하지만 콜레스테릭 액정은 열방성(thermotropic)으로 온도에 따라 액정의 구조단위가 변하는 성질을 가지고 있어 그 조성에 따라 비가역적으로 저온에서 고체로 결정화되거나 일상 생활온도가 아닌 고온에서 액정형성을 하는 단점을 가지고 있어 그 특성을 유지하는 데 어려운 단점이 있다. 이러한 단점을 극복하지 않으면 화장품 소재로서 응용성이 낮을 수밖에 없다. 따라서 화장품 조성료로 활용하기 위

해서는 일상생활온도의 넓은 범위 내에서 고유한 반사 빛을 유지하고 또한 온도 변화에도 액정배열을 유지할 수 있는 안정성이 필요하다. 본 연구에서 일상생활 온도(-4 °C ~ 45 °C)에서 액정배열의 안정성과 고유 반사 색을 유지하는 최적의 액정 조성을 찾고자 하였다. 액정조성 실험군은 먼저 실온에서 solid phase 조합을 제외하고 액정형성이 용이한 유동성을 가지는 조성 영역을 설정하여 Figure 2와 같이 실험영역을 설정하고 비동물성 콜레스테릭 유도체(CI, CN, CC)를 이용하여 삼성분계 조성별 액정평가를 진행하였다. 설정한 실험 영역 내의 조성단위는 액정의 변별력 있는 데이터 산출을 고려해서 5% 단위로 설정하였다. 따라서 각 실험영역을 5% 단위로 조성을 설정하고 Table 1에 정리하였다. 각 조성별로 투입된 액정은 70 °C 가온조건에서 제조하고 실온(25 °C)으로 온도를 낮춘 후 특성평가를 진행하였다. 한편 실험에 사용한 비동물성 콜레스테릭 액정 유도체는 공정에서 난점이 있는 carbonate 유도체(cholesteryl oleyl carbonate)를 피하고 비교적 합성이 용이하고 경제성을 감안한 ester 유도체를 합성하여 실험을 진행하였다.

3.2. 콜레스테릭 액정 조성에 따른 안정도 평가

제조된 콜레스테릭 액정을 온도 범위 45 °C ~ -4 °C 사이에서 실험을 실시하였으며 45 °C에서 초기온도를 설정하여 45 °C, 40 °C, 35 °C, 30 °C, 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C, 0 °C, -4 °C로 점차적으로 온도를 낮추어 실험을 지행하였다. 시작한 고온에서부터 사라지는 저온영역 사이를 육안평가를 통해서 발색을 유지하는 온도 범위를 dT로 설정하고 그 결과를 Table 2에 정리하였다. 그리고 dT 값이 큰 액정들을 선정하고 저온 안정성을 평가하기 위해서 -4 °C에서 12 h 유지 후 다시 45 °C까지 온도를 올리면서 원래의 액정고유 발색이 가역적으로 관찰되는 지 확인하였다(Table 3). 그 결과 A4 ~ A10과 B9 ~ B11 계열 액정에서 dT 값이 전반적으로 크게 나타났다. 하지만 그중 dT 값(49 ~ 45)이 가장 큰 A8 ~ A10과 B9 ~ B11 액정은 저온에서 고체형성으로 재가온을 해도 액정이 재배열되지 않는 낮은 액정 안정성을 보여주었고 또한 재배열이 되기까지는 40 °C 이상의 고온 조건이 필요하였다. 이는 일상생활 온도에서 비가역성을 나타내는 결과이며 결과적으로 안정성이 떨어져 화장품 제형 적용성이 낮

Table 1. Composition Rate of Partial Ternary Phase Diagram

No	Composition rate (%)		
	CI	CC	CN
A1	65	30	5
A2	60	30	10
A3	55	30	15
A4	50	30	20
A5	45	30	25
A6	40	30	30
A7	35	30	35
A8	30	30	40
A9	25	30	45
A10	20	30	50
B1	70	25	5
B2	65	25	10
B3	60	25	15
B4	55	25	20
B5	50	25	25
B6	45	25	30
B7	40	25	35
B8	35	25	40
B9	30	25	45
B10	25	25	50
B11	20	25	55
C1	75	20	5
C2	70	20	10
C3	65	20	15
C4	60	20	20
C5	55	20	25
C6	50	20	30
C7	45	20	35
C8	40	20	40
C9	35	20	45
C10	30	20	50
C11	25	20	55
C12	20	20	60
D1	60	10	30
D2	55	10	35
D3	50	10	40
D4	60	15	25
D5	45	15	40
D6	50	35	15
D7	45	35	20
D8	40	35	25

Table 2. Clear Point Test of Cholesteric Liquid Crystal

MIN: Minimum temperature (°C) of visible light disappearing

MAX: Maximum temperature (°C) of visible light disappearing

dT=MAX-MIN

Clear point Test : Gradually reduce the temperature from -4 °C to 45 °C

No	Clear point		
	MIN (°C)	MAX (°C)	dT
A1	10	35	25
A2	10	40	30
A3	10	40	30
A4	0	45	45
A5	0	45	45
A6	0	45	45
A7	0	45	45
A8	-4	45	49
A9	-4	45	49
A10	-4	45	49
B1	20	35	13
B2	20	40	20
B3	15	40	25
B4	15	45	30
B5	15	45	30
B6	15	45	30
B7	10	45	35
B8	10	45	35
B9	0	45	45
B10	0	45	45
B11	0	45	45
C1	25	35	10
C2	25	40	15
C3	25	40	15
C4	25	45	20
C5	25	45	20
C6	25	45	20
C7	25	45	20
C8	25	45	20
C9	25	45	20
C10	25	45	20
C11	25	45	20
C12	25	45	20
D1	40	45	5
D2	40	45	5
D3	40	45	5
D4	35	45	10
D5	35	45	10
D6	-4	35	39
D7	-4	35	39
D8	-4	35	39

Table 3. Correlation between Low Temperature Stability and Composition

Low temperature stability test : After 12 h storage at -4 °C gradually raise the temperature from 45 °C to -4 °C

No	Composition rate (%)			dT	stability
	CI	CC	CN		
A4	50	30	20	45	reversible
A5	45	30	25	45	
A6	40	30	30	45	
A7	35	30	35	45	
A8	30	30	40	49	irreversible
A9	25	30	45	49	
A10	20	30	50	49	
B9	30	25	45	45	
B10	25	25	50	45	
B11	20	25	55	45	

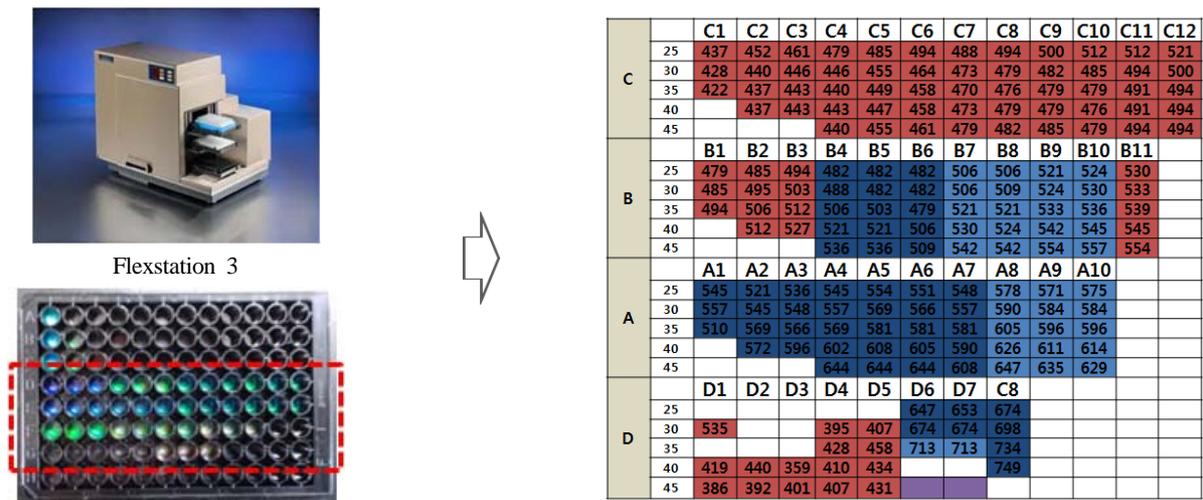


Figure 3. λ^{\max} change by temperature using Flexstation.

음을 보여준다. 본 연구에서 사용되는 콜레스테릭 액정은 액체상(CI)과 고체상(CC, CN)의 물리적 성질을 가진 조합으로 만들어진다. 따라서 저온에서도 액체 성질을 가진 CI의 농도에 따라서 저온 안정성이 좌우된다는 것을 유추할 수 있다. 따라서 CI의 조성에 따라 가역성이 나타나는 액정군에 대한 CI 농도를 보면 35% 이상이 포함되었을 때 가역성이 나타날 수 있음을 보여준다. 유추한 바와 같이 CI는 저온에서 고체화를 막아주는 용해도 효과에 의해서 액체상 배열을 유

지시키는 역할을 하고 있음을 보여준다. 따라서 저온 안정성을 유지하기 위해서는 CI가 전체농도의 35% 이상 포함되어야 하는 것을 알 수 있다. 본 결과에서 저온에서 안정성이 높고 넓은 온도범위에서 비주열을 유지하는 액정조성은 A4 ~ A7계열이라는 것을 확인하였다.

3.3. 콜레스테릭 액정 특성 분석

콜레스테릭 액정은 열방성(thermotropic)으로 온도

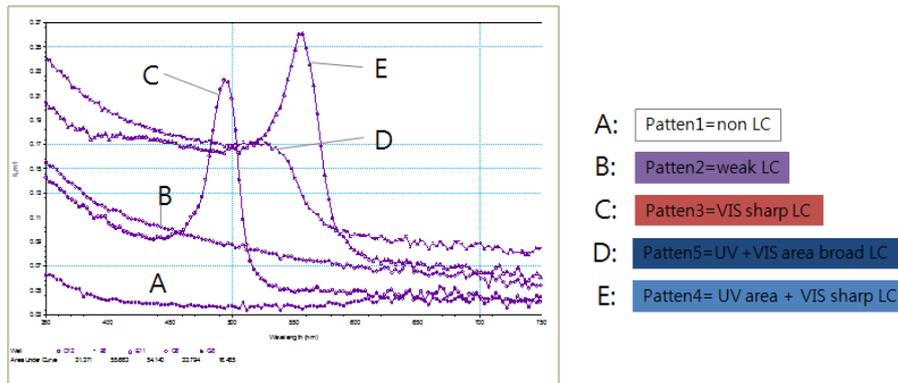


Figure 4. UV-VIS peak shape of cholesteric LC.

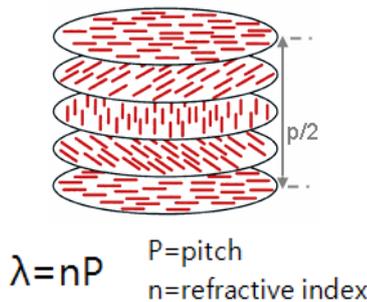


Figure 5. Bragg's law.

에 따라 액정의 구조단위가 변하는 성질을 가지고 있다. 따라서 온도에 따른 가시영역 파장변화를 보고 액정에 대한 파장특성을 분석하고자 하였다. 하지만 콜레스테릭 액정 특성분석을 위해서는 액정이 유지된 상태로 분석하고 온도에 따라 파장을 분석이 필요하다. 이러한 난점으로 인해 UV-VIS 스펙트럼을 분석하기 위해서는 많은 시간과 비용이 소모된다. 따라서 본 연구는 효율적인 분석을 위해서 Flexstation 3를 이용하여 짧은 시간 내에 많은 액정을 분석할 수 있는 방법을 고안하였다. 본 방법은 96 well plate에 샘플을 투입하여 96개의 액정 변화 관찰이 동시에 가능하여 액정특성 파악을 위해서 아주 효율적인 장비이다. 이러한 방법으로 UV-VIS 영역 파장을 측정하고 그 결과를 Figure 3에 나타내었다.

UV-VIS 스펙트럼은 빛이 반사되어 filter된 나머지 파장을 흡수파장으로 나타내었으며 온도 25 ~ 45 °C 사이에 5 °C 단위로 최대흡수파장 변화량을 측정하고 정리하였다(Figure 3). 그리고 각각의 액정에 나타나는 스펙트럼을 분석하여 5개의 피크패턴을 Figure 4에 나

타내었으며 이에 대한 특성을 분석하였다. 대부분의 액정의 UV-VIS 스펙트럼은 C (Patten 3), D (Patten 4), E (Patten 5)의 피크패턴과 같이 나타났다.

한편 D6 ~ D7을 제외한 대부분의 액정들은 온도변화에도 고유 피크패턴을 유지하여 피크형태는 조성의 고유한 성질임을 추론할 수 있었다. 따라서 이러한 액정의 피크패턴과 비주열 범위(dT)와 연관성이 있을 것이라고 판단하고 각 피크패턴별로 액정들의 조성파 dT를 나열하여 Table 4에 정리하였다. 그 결과 E (Patten 5) 피크형태로 나타나는 계열은 A8 ~ A10 / B7 ~ B10이었으며 D (Patten 4) 피크형태로 보이는 액정은 A2 ~ A7 / B4 ~ B6, C (Patten 3) 피크 형태로 보이는 액정은 A2 ~ A7 / B4 ~ B6로 나타났다. 그리고 액정패턴과 dT와의 관계를 보면 E (Patten 5)가 dT=49 ~ 35 사이로 가장 넓은 범위에서 비주열 액정을 유지하였으며 그 다음으로 D (Patten 4)가 dT=45 ~ 30로 높게 나타났다. C피크 형태는 dT=20 이하 값으로 가장 좁은 범위에서 나타났다. 따라서 액정의 피크패턴과 비주열 범위(dT)와의 상관관계가 있음을 추론할 수 있으며 비교적 broad 피크에서 비주열 영역이 높은 것으로 나타났다. 비주열 범위(dT)가 넓은 액정 A4 ~ A10과 B9 ~ B11은 D (Patten 4), E (Patten 5) 형태로 broad 피크를 유지하였다. 한편 이러한 액정의 고유반사 파장은 콜레스테릭 액정의 피치길이와 연관성이 있는 이론 Bragg's law에 따라 피치길이와 dT 그리고 저온 안정성과의 상관관계를 알아보고자 하였다.

피치(pitch)의 길이에 따라서 반사되는 파장이 결정이 되는 Bragg's law ($\lambda = nP$)을 Figure 5에 나타내었다 [11]. Bragg's law에 따르면 broad 피크 형태는 다양한

Table 4. Correlation between UV-VIS Peak Shape and CLC

(A) Patten 5

No	Composition rate (%)			dT
	CI	CC	CN	
A8	30	30	40	49
A9	25	30	45	49
A10	20	30	50	49
B7	40	25	35	35
B8	35	25	40	35
B9	30	25	45	45
B10	25	25	50	45
B11	20	25	55	45

(B) Patten 4

No	Composition rate (%)			dT
	CI	CC	CN	
A2	60	30	10	30
A3	55	30	15	30
A4	50	30	20	45
A5	45	30	25	45
A6	40	30	30	45
A7	35	30	35	45
B4	55	25	20	30
B5	50	25	25	30
B6	45	25	30	30
D8	40	35	25	39

(C) Patten 3

No	Composition rate (%)			dT
	CI	CC	CN	
B1	70	25	5	15
B2	65	25	10	20
B3	60	25	15	25
C1	75	20	5	10
C2	70	20	10	15
C3	65	20	15	15
C4	60	20	20	20
C5	55	20	25	20
C6	50	20	30	20
C7	45	20	35	20
C8	40	20	40	20
C9	35	20	45	20
C10	30	20	50	20
C11	25	20	55	20
C12	20	20	60	20
D1	60	10	30	5
D2	55	10	35	5
D3	50	10	40	5
D4	60	15	25	10
D5	45	15	40	10

Table 5. λ^{\max} Change according to Temperature of CLC

(A)	°C	λ^{\max} (nm)									
		A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
	25	545	521	536	545	554	551	548	578	571	575
	30	557	545	548	557	569	566	557	590	584	584
	35	510	569	566	569	581	581	581	605	596	596
	40		572	596	602	608	605	590	626	611	614
	45				644	644	644	608	647	635	629

(B)	°C	λ^{\max} (nm)										
		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11
	25	479	485	494	482	482	482	506	506	521	524	530
	30	485	495	503	488	482	482	506	509	524	530	533
	35	494	506	512	506	503	479	521	521	533	536	539
	40		512	527	521	521	506	530	524	542	545	545
	45				536	536	509	542	542	554	557	554

(C)	°C	λ^{\max} (nm)											
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
	25	437	452	461	479	485	494	488	494	500	512	512	521
	30	428	440	446	446	455	464	473	479	482	485	494	500
	35	422	437	443	440	449	458	470	476	479	479	491	494
	40		437	443	443	447	458	473	479	479	476	491	494
	45				440	455	461	479	482	485	479	494	494

피치길이(pitch length)의 액정이 고루 분포되어 있는 것을 말해주며 sharp한 피크는 특정한 피치길이(pitch length)의 액정이 밀집되어 있다는 것을 말해준다. 이러한 이론과 결과들을 비교해 보면 특정 피치길이(pitch length) 액정의 분포도가 높으면 낮은 비주열 범위(dT)를 나타냈고 다양한 피치길이(pitch length)의 액정이 고루 분포되어 있는 액정은 높은 비주열 범위(dT)를 나타내는 것을 알 수 있었다. 그리고 높은 비주열 범위(dT)를 나타내는 액정 중에서 저온 안정성이 높은 액정(A4 ~ A7)들은 D (Patten 4)과 같이 broad를 보여주고 있다. 한편 상대적으로 저온 안정성이 낮은 액정(A8 ~ A10 / B7 ~ B10)들은 E (Patten 5) 형태로 broad 피크와 sharp 봉우리가 동시에 존재한다. 이는 특정 피치길이의 액정이 D 보다 많은 비율로 존재한다는 것을 의미한다. 상대적으로 다양한 피치길이(pitch length)의 액정이 고루 존재할 수 있는 조성이 가장 저

온 안정성이 높고 동시에 넓은 온도에서 비주열을 구현할 수 있는 콜레스테릭 액정이라고 말할 수 있다. 결론적으로 이러한 현상을 유지하는 액정은 CI의 농도와 상관성이 있을 것으로 판단되며(Table 3), broad피크를 유지하는 액정 중 CI의 농도가 35% 미만이면 유사한 피치길이의 액정이 좀 더 많은 비율로 분포되며 상대적으로 저온 안정성이 떨어짐을 알 수 있다.

한편 콜레스테릭 액정은 앞서 설명한 대로 visible 영역의 빛을 반사시켜 R/G/B 계열의 다양한 색을 나타낸다. 따라서 이러한 발색을 좌우하는 인자들을 파악하기 위해 Table 5의 온도에 따른 λ^{\max} 변화 값과 Table 2의 조성 값을 JMP 기초통계 프로그램을 이용하여 λ^{\max} 에 미치는 주요인자들을 통계학적으로 산출하였다. 그 결과 $p > 0.0001$ 로 $CC > CI > 온도$ 순서로 영향이 큰 것으로 나타났다(Figure 6). 또한 λ^{\max} 에 cholesteryl chloride (CC)의 함량 30%, 25%, 20%인 조

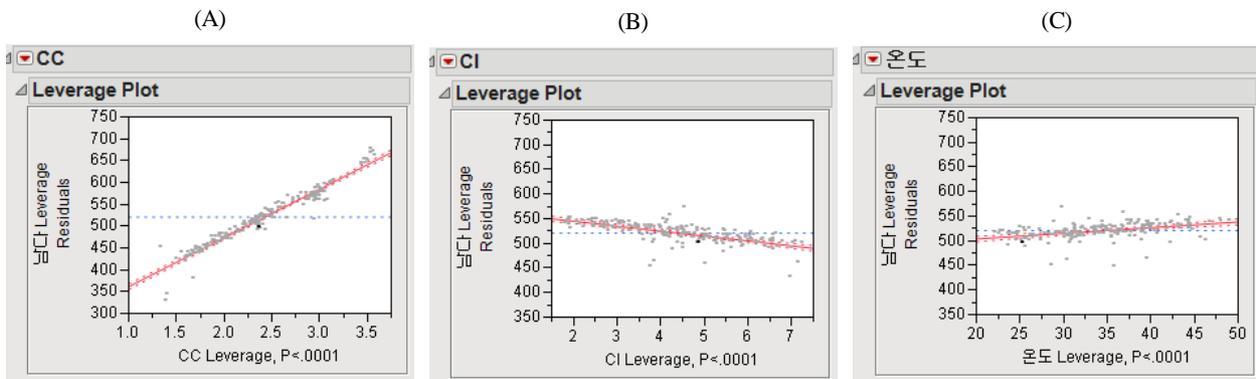


Figure 6. JMP software (A) Cholesteryl chloride [CC] dependent. λ^{\max} variation ($p > 0.0001$) (B) Cholesteryl isostearate [CI] dependent λ^{\max} variation ($p > 0.0001$) (C) Temperature ($^{\circ}\text{C}$) dependent λ^{\max} variation ($p > 0.0001$).

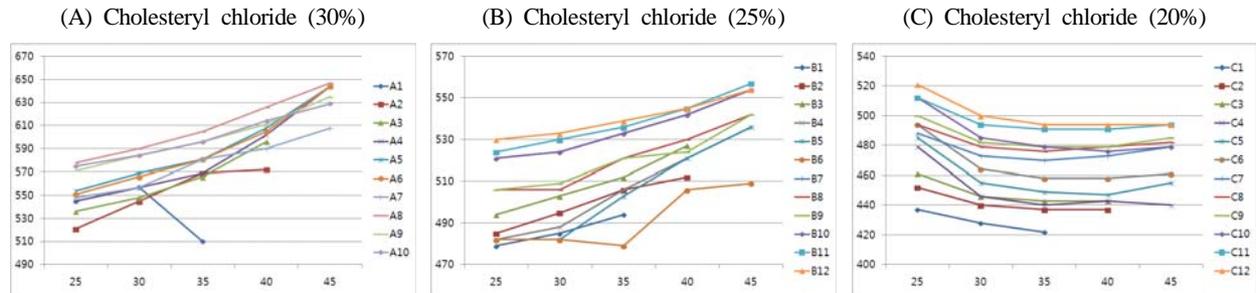


Figure 7. Cholesteryl chloride [CC] dependent graph slope.
 x axis = temperature ($^{\circ}\text{C}$), y axis = λ^{\max}
 (A) 30%, (B) 25%, (C) 20% Cholesteryl chloride [CC].

성비율을 각각 온도에 따라서 λ^{\max} 변화를 산출한 결과 CC의 농도에 따라서 급격한 기울기 변화를 관찰할 수 있었으며 Figure 7(A) / Figure 7(B)의 경우 +기울기를 보이지만 Figure 7(C)의 경우는 -기울기를 보인다. 따라서 CC의 농도에 따라 기울기 변화가 가장 크다고 볼 수 있다. 이는 보고된 바와 같이 helical handed가 달라짐을 보여준다[12]. 본 결과로 보면 원하는 R/G/B 색상을 얻기 위한 콜레스테릭 액정연구는 CC의 함량에 따라 색상이 가장 크게 좌우되므로 우선적으로 CC의 함량을 기준으로 원하는 조합을 구현하는 것이 바람직하다고 판단된다.

지금까지 본 연구에서 비동물성 콜레스테롤로부터 합성한 3가지 물질(CI, CC, CN)로 조성연구를 통해서 액정의 특성과 안정성이 뛰어난 A4 ~ A7 액정조성을 찾았다. 따라서 안정한 액정 조성 중 A6 조성 콜레스테릭 액정을 이용하여 다양한 제형(성형, 캡슐, 분산)으로 제조하였다(Figure 8). 본 결과는 안정한 비동물

성 콜레스테릭 액정의 제형 내에서의 비주얼 액정을 보여 줌으로서 화장품 소재로서 뛰어난 적용성을 보여 주고 있다.

3.4. 콜레스테릭 액정(A6)의 피부 보습 효능 평가

이상의 결과에 따라 가장 안정적인 조성영역 액정 중 A6 액정에 대해서 피부 효능을 관찰하기 위해 인공피부를 이용한 피부 보습 효능 평가를 수행하였다. 표피의 각질형성세포는 일련의 분화 및 각질화과정을 거쳐 각질층을 형성하게 된다. 각질층은 물리적, 화학적으로 물질의 이동을 통제하여 실제적인 피부장벽의 역할을 수행하게 된다. Filaggrin은 분화하는 각질형성세포가 생성하는 단백질로, 피부장벽의 생성과 유지에 중요한 역할을 하여 각질형성세포의 분화와 피부장벽기능을 관찰하는 주요 마커로 사용되고 있다 [13,14]. 아래의 평가의 결과와 같이 A6를 처리한 군에서 filaggrin 단백질의 발현 증가가 관찰되었다. 이는

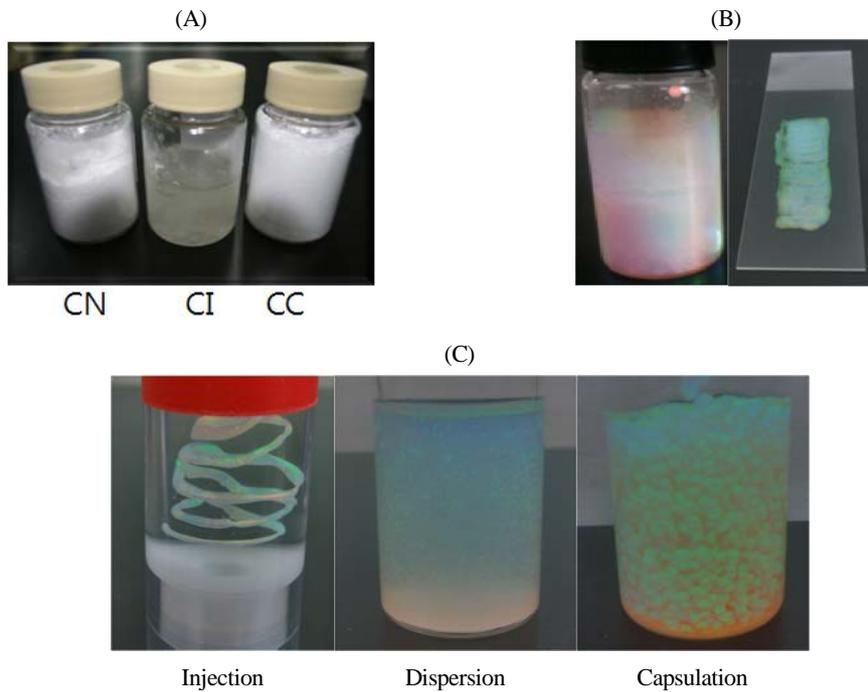
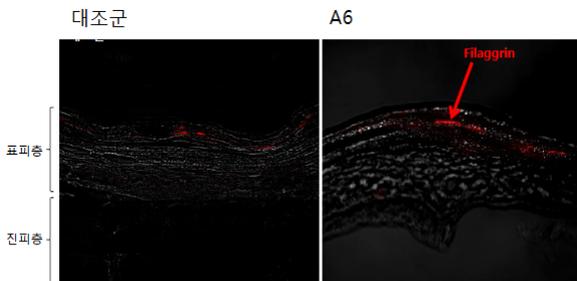


Figure 8. Visual of cholesteric liquid crystal.
 (A) Ingredient (CN,CI,CC) (B) A6 CLC (C) Formulations of A6



A6가 표피의 분화 및 장벽 기능을 강화함으로써 피부 보습에 도움을 줄 수 있음을 보여주는 결과이다.

4. 결론

앞서 설명한 바와 같이 발효 콜레스테롤로부터 콜레스테릭 액정을 제조하여 비동물성 액정을 구현하였으며 일상생활의 넓은 온도범위에서 안정성을 유지하는 제형적용성이 높은 액정을 개발하였다. 또한 인공 피부를 이용하여 피부 보습효능을 확인함으로써 화장품 조성료로서 가치가 있는 보습효능과 비주얼을 동시

에 소구할 수 있는 비주얼 액정을 구현하였다. 한편 본 연구에서 활용한 분석법인 온도에 따른 안정성 평가 및 Flexation 3를 이용한 평가법은 콜레스테릭 액정의 안정성과 특성에 미치는 주요 인자들을 찾을 수 있는 평가법으로 액정의 제형 적용성을 높일 수 있는 새롭고 효율적인 평가법을 제시하였다고 말할 수 있다.

Reference

1. D. J. Broer, J. Lub, and G. N. Mol, Wide-band reflective polarizers from cholesteric polymer networks with a pitch gradient, *Nature*, **378**, 467 (1995).
2. R. A. M. Hikmet and J. Lub, Anisotropic networks and gels obtained by photopolymerisation in the liquid crystalline state: Synthesis and applications, *Prog. Polym. Sci.*, **21**, 1165 (1996).
3. V. Shibaev, A. Bobrovsky, and N. Boiko, Photoactive liquid crystalline polymer systems with light-controllable structure and optical properties,

- Prog. Polym. Sci.*, **28**, 729 (2003).
4. M. Schadt, H. Seiberle, and A. Schuster, Optical patterning of multi-domain liquid-crystal displays with wide viewing angles, *Nature*, **381**, 212 (1996).
 5. P. V. Witte, E. E. Neuteboom, M. Brehmer, and J. Lub, Modification of the twist angle in chiral nematic polymer films by photoisomerization of the chiral dopant, *J. Appl. Phys.*, **85**, 7517 (1999).
 6. N. Tamaoki, A. Parfenov, A. Masaki, and Matsuda H, Rewritable full-color recording on a thin solid film of a cholesteric low-molecular-weight compound, *Adv. Mater.*, **9**, 1102 (1997).
 7. N. Tamaoki, G. Kruk, and H. Matsuda, Optical and thermal properties of cholesteric solid from cholesteryl esters of diacetylene dicarboxylic acid, *J. Mater. Chem.*, **9**, 2381 (1999).
 8. D. Demus, J. Goodby, G. W. Gray, H. W. Spiess, and V. Vill, Hand book of liquid crystals, eds. J. W. Goodby, P. J. Collings, T. Kato, C. Chierske, H. Gleeson, and P. Raynes, 1, Wiley-VCH, Weinheim (1998).
 9. J. Suzuki, H. Yorozu, and G. Imokawa, Moisturizing effect of bath additive containing cholesteryl isostearate, *NishiNihon Hifuka*, **56**(3), 494 (1994).
 10. P. Gangatirkar, S. Paquet-Fifield, A. Li, R. Rossi, and P. Kaur, Establishment of 3D organotypic cultures using human neo natal epidermal cells, *Nat. Protoc.*, **2**(1), 178 (2007).
 11. P. G. de Gennes and J. Prost, The physics of liquid crystals, eds. P. G. de Gennes and J. Prost, Clarendon Press, Oxford, U.K. (1993).
 12. H. Kozawaguchi and M. Wada, Helical sense and pitch of cholesteric liquid crystals, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **45**, 55 (1978).
 13. A. Sandilands, C. Sutherland, A. D. Irvine, and W. H. McLean, Filaggrin in the frontline : Role in skin barrier function and disease, *J. Cell Sci.*, **122**(9), 1285 (2009).
 14. J. A. Mcgrath and J. Uitto, The filaggrin story: Novel insights into skin-barrier function and disease, *Trends. Mol. Med.*, **14**(1), 20 (2008).