

센텔라아시아티카정량추출물의 리포솜 캡슐기술 개발과 피부개선효과

김성장^{1*} · 주연정¹ · 김인영^{2†}

¹리더스코스메틱(주) 피부과학연구소

^{2†}(주)바이오뷰텍 기술연구소

(2020년 9월 24일 접수: 2020년 10월 30일 수정: 2020년 10월 30일 채택)

Skin Improvement Effects and Development of Liposome Capsule Technology Using Centella Asiatica Extract Powder

Seong Jang Kim^{1*} · Yeon Jeong Ju¹ · In-Young Kim^{2†}

^{1,*}R&D Center, LEADER COSMETICS CO., LTD, 34, je4sandan 1-ro, Miyang-myeon,
Anseong-si, Gyeonggi-do, 17604, Republic of Korea

^{2,†}R&D Center, BIOBEAUTECH CO., LTD, 710 Megadong, 124 Sagimakgol-ro,
Jungwon-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do, 13207, Republic of Korea

(Received September 24, 2020; Revised October 30, 2020; Accepted October 30, 2020)

요 약 : 본 연구에서는 의약품과 화장품에 사용되는 고순도의 센텔라아시아티카정량추출물을 리포솜화하는 방법과 이를 이용한 크림을 개발하여 주름개선에 대한 *in-vivo* 임상평가에 대하여 연구한 결과를 보고한다. 리포솜 라멜라 베지클에 센텔라아시아티카정량추출물을 안정화시킨 센텔라솜-10EX을 만들기 위하여, 5%의 하이드로제네이티드레시틴과 2%의 수크로오스다이스테아레이트를 사용하여 완성시킬 수 있었다. 센텔라솜-10EX의 외관은 저점성의 크림상, 색상은 옅은 황색, 냄새는 원료 본연의 고유취가 있었다. pH는 약 6.12 이었으며, 비중은 1.09, 산가는 약 0.35이었다. 리포솜 베지클에 함유된 센텔라아시아티카정량추출물의 주성분의 함량은 10,800ppm의 아시아틱애씨드, 10,900ppm의 아시아티코사이드, 6,000ppm의 마테카식애씨드, 1,600ppm의 마테카소사이드가 함유하고 있으며, 장기간 보관 시에도 변색이 없었고, 열역학적으로 주성분이 안정하게 유지되고 있음을 알 수 있었다. 센텔라솜-10EX의 리포솜 베지클의 구조를 메커니즘 적으로 분석하기 위하여, 투과전자현미경 (Cryo-TEM)으로 관찰한 결과 다중층막이 형성되어 수분이 채워져 있고, 그 주변에는 10~60여층의 다중층의 리포솜 라멜라 베지클 형성되었음을 확인하였다. 임상시험(*in-vivo*)으로써, 센텔라솜 크림의 5주동안 바른 후의 보습효과는 28.3%로 플라세보 보다 유의차 있게 증가되었다. 피부탄력효과는 13.6%로 플라세보 보다 유의차 있게 보습력이 증가되었다. 눈가의 피부잔주름 개선효과는 플라세보 크림보다 23.52%가 개선되었다. 이 연구 결과를 통하여 개발된 센텔라솜-10EX의 리포솜 베지클에 봉입 안정화하는 처방과 제조방법에 대

†Corresponding author

(E-mail: iykim200@naver.com)

하여 연구할 수 있었으며, 이를 이용한 크림에 대한 주름개선효과 등의 임상연구를 통하여 얻어진 결과들이 화장품 산업에 있어서 피부과학을 연구하고, 고 효능을 가진 고품격 화장품을 개발하는데 폭넓게 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

주제어 : 센텔라아시아티카추출물, 리포솜베지클, 피부개선, 안티링클, 보습, 화장품

Abstract : In this study, we report the results of a study on the clinical evaluation of wrinkle improvement by developing a method for liposome of high-purity *Centella asiatica* extract used in pharmaceuticals and cosmetics, and a cream using the same. In order to make Centellasome-10EX stabilizing centella asiatica extract in liposome lamella vesicle, it could be completed using 5% hydrogenated lecithin and 2% sucrose distearate. The appearance of Centellasome-10EX was a creamy form of low viscosity, the color was pale yellow, and the odor had the inherent odor of the raw material. The pH was about 6.12, the specific gravity was 1.09, and the acid value was about 0.35. The content of the main constituents of centella asiatica extract contained in the liposome vesicle contains 10,800 ppm of asiatic acid, 10,900 ppm of asiaticoside, 6,000 ppm of madecasic acid, and 1,600 ppm of madecassoside, and long-term storage. There was no discoloration even at the time, and it was found that the main component remained stable thermodynamically. To mechanistically analyze the structure of the liposome vesicle of Centellasome-10EX, as a result of observation with a transmission electron microscope (Cryo-TEM), the multilayer vesicles are formed and filled with moisture, and there are 10 to 60 multilayers around it. It was confirmed that the liposome lamella vesicle was formed. As a clinical trial (*in-vivo*) test, the moisturizing effect of centellasome cream after application for 5 weeks was 28.3%, which was significantly increased compared to placebo. The skin elasticity effect was 13.6%, which significantly increased the moisturizing power than the placebo. The effect of improving fine wrinkles around the eyes was improved by 23.52% compared to placebo cream. Through the results of this study, it was possible to study the formulation and manufacturing method for encapsulation and stabilization of the developed Centellasome-10EX in the liposome vesicle. It is expected that the results obtained through clinical research on the wrinkle improvement effect of the cream using this can be widely used to study skin science in the cosmetic industry and to develop high-quality cosmetics with high efficacy.

Keywords : *Centella asiatica* extract, liposome vesicle, skin improvement, anti-wrinkle, moisture, cosmetics

1. 서론

센텔라아시아티카정량추출물에 대하여 상세하게 알아보기 위해서는 우선 병풀에 대하여 살펴 봐야 한다. 병풀은 Fig. 1에 나타난 바와 같은 모양의 식물로 한국에서는 논과 밭둑 주변의 습지에 서식하는 식물을 사진으로 나타낸 사진으로 오래전부터 섭취해왔으며, 최근에는 당뇨병나 고혈압에 좋은 약재로도 활발한 연구가 이루어지고 있는 소재이기도 하다[1].

병풀의 학명은 *Centella Asitca*.로 한국, 일본, 중국, 인도네시아, 스리랑카 등의 다습한 지역에서 서식하며 그 잎은 2~5cm의 크기로 자란다. 쌍떡잎의 식물로 이판화군 산형화목, 미나리과의 여러해살이 풀이다. 꽃은 7~8월에 피며 홍자색을 띤다 [1~3]. 병풀은 음식에 넣어 먹기도 하며, 다양한 질병치료로 사용되어 장수풀이라고도 불리어진다.[4] 센텔라아시아티카정량추출물은 병풀의 잎과 줄기에서 얻어지는 주성분으로써 식용, 약용, 화장품용으로 폭넓게 사용되고 있는 원료이

다. 특히 화장품 산업에서는 병풀잎추출물 또는 병풀잎수로도 간단하게 사용하기도 한다 [5~7].

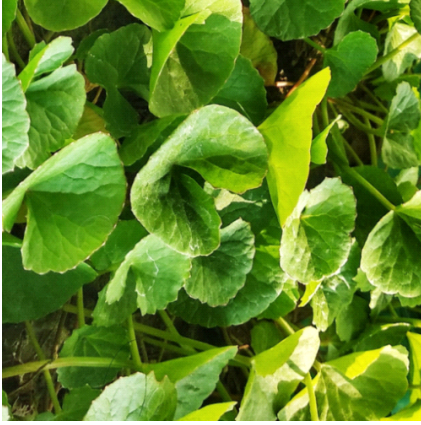


Fig. 1. Picture of centella asiatica leaf and stems; *Centella asiatica* (L.) Urban in Korea fields.

센텔라아시아티카정량추출물은 화장품과 의약품 원료로 지정되어 있는 성분이기도 하며, 양쪽 산업모두에서 우수한 원료 소재로 사용되어지고 있다[6-8]. 특히 이 성분은 의약품 분야에서 상처치유 기능을 가진 연고로 공업화되고 있으며, 화장품에서는 피부 보호작용을 하는 기능으로써 다양한 제형에 사용되고 있다[7-9]. 센텔라아시아티카정량추출물에는 4 가지의 성분이 함유되어 있는데 그것은 아시아틱에씨드, 마데카식에씨드, 아시아티코사이드, 마데카소사이드가 함유되어 있다 [10-12].

한편 리포솜은 화장품 산업에서 가장 많이 활용되고 있는 기술로 피부 친화력이 우수하며, 물에 분산시켰을 때 이중 층 (bi-layer)의 베지클 (vesicle)이 형성된다. 이를 구현하기 위해서는 하이드로제네이티드레시틴을 사용해야 한다 [13]. 이 원료를 이 베지클 안에 센텔라아시아티카정량추출물을 봉입하여 안정화시키고자 한다. 친수기에는 콜린이 결합되어 있고, 소수기에는 2 개의 직쇄 사슬로 이어진 알킬 체인이 결합되어 있어서 소포체를 형성시킨다[14]. 또한 이 원료로 알파 구조를 형성하는 액정 드롭렛을 만들 수 있는데, 실제로 스킨케어 화장품에 응용하기 위하여는 단일물질로만 사용하는 것이 아니라 보조 계면활성제나 안정화제를 사용하여야만 한다 [15]. 리포솜 기술을 이용하여 활성성분을 안정화한 기술은

많은 연구들이 보고되고 있다. 레티놀을 리포솜에 봉입하여 안정화시키는 기술, 아스코르빅산을 리포솜에 안정화시켜 장기 보존성을 높여주고 피부의 화이트닝효과를 높여주는 기능을 가진 기술로 적용된 보고가 있다. 그러나 현재까지 의약품에 사용되는 센텔라아시아티카정량추출물을 리포솜에 안정화시켜서 화장품에 적용된 사례는 찾아보기 어렵다 [16~18].

본 연구에서는 센텔라아시아티카정량추출물의 용해성에 대하여 연구하고, 이 결과를 바탕으로 하이드로제네이티드레시틴과 수크로오스다이스테아레이트를 사용하여 이중층을 형성시켜 리포솜 베지클 내부에 활성성분을 패키징시켜 안정화시키고, 이에 대한 안정화 조건 설정 및 물성에 대하여 연구하였다. 이 계면활성제를 사용하여 리포솜을 만들고, 이 과정을 통하여 액정형성 원리를 메커니즘적으로 규명하였다. 또한, 형성된 리포솜의 구조가 라멜라형 베지클이 형성되는지를 전자현미경으로 관찰하여 형성구조를 해석하였으며, 이를 기반으로 한 리포솜 크림화장료를 개발하였다. 이 크림화장료에 대하여 피부개선효과에 대하여 임상적으로 연구하였다. 피부개선효과, 주름개선효과, 피부탄력도 개선효과를 측정을 통한 피부장벽 강화효과에 대하여 연구한 결과를 보고한다. 응용분야로써, 리포솜기술로 개발된 센텔라라좀 콤플렉스-10EX 소재를 사용하여 다양한 제형이 가능하도록 하기 위하여 스킨케어화장료, 메이크업 케어 화장품, 두피보호용 화장품 등 다양한 처방에 응용이 가능할 것인가에 대하여 연구한 결과를 소개한다.

2. 재료 및 실험방법

2.1. 재료

본 연구에 사용된 원료는 센텔라아시아티카정량추출물 (바이오부텍, 한국)로 의약품 등급을 사용하였고, 리포솜을 형성하기위하여 하이드로제네이티드레시틴 (SPL-75H, 바이오부텍, 한국), 수크로오스다이스테아레이트 (Sicro-DiST, 바이오부텍, 한국)를 혼합하여 액정형성 전용 유화제로 개발된 MIZOAN® Sugar Crystal LC (바이오부텍, 한국)를 사용하였다. 유연제 및 보습제로써 마카다미아씨오일 (미성통상, 한국), 글리세린(엘지화학, 한국), 부틸렌글라이콜 (OQ Chemical, USA), 병풀추출물 (바이오부텍, 한국), 소듐하이

알루로네이트 (바이오뷰텍, 한국), 기타 원료는 화장품용 등급의 원료를 별도의 처리 없이 그대로 사용하였다.

TS, 바이오뷰텍, 한국)를 사용하였다. 기타 장비로는 바이오뷰텍에서 보유하고 있는 장비를 특별한 개조 없이 그대로 사용하였다.

2.2. 기기

계면활성제를 사용하여 리포솜을 만들기 위하여 사용된 기기는 호모믹서 (Premix, 일본)와 디스퍼믹서 (Disper mixer, HY-110, 한성ENG, 한국), 고압마이크로플루다이저 (마이크로녹스, 한국)를 사용하였다. 일반적으로 유화상태를 관찰하기 위하여 올림퍼스의 광학현미경(Olympus BX-51, 일본)을 사용하였다. 또한 리포솜의 구조 및 모양을 관찰하기 위하여 투과전자현미경 (Cryo-TEM)을 한국과학기술연구원에 의뢰하여 분석하였다. 보습효과, 주름개선효과, 피부탄력효과를 측정하기 위한 임상장비로서 아라모 TS (Aramo-

2.3. 리포솜 제조방법

본 연구에서 리포솜을 형성시키는 제조방법은 Table 1과 Fig. 2에 그림으로 나타내었다. 우선 액정형성 전용 유화제인 7%의 MIZOAN[®] Sugar Crystal LC를 10%의 트리에틸헥사노인과 5%의 마카다미아씨오일에 넣어서 70~90°C로 가온용해하였다. 여기에 2.93%의 센텔라아시아티카 정량추출물 분말을 투입하여 같은 온도로 가온하여 용해하였다. 여기에 25%의 글리세린, 20%의 부틸렌글라이콜, 27.87%의 병폴잎추출물을 투입 교반하고, 2시간동안 습윤반응을 시켰다. 여기에 1,2-헥산다이올과 소듐하이알루로네이트를 첨가

Table 1. Composition of Liposome Vesicles using Hydrogenated Lecithin and Sucrose Distearate incorporated in Centella Asiatic Extract

Phase	Ingredient Name	CentellaSome-10EX (wt%)	Functions
A	MIZOAN [®] Sugar Crystal LC	7.000	Surfactant
	Triethylhexanoin	10.000	Emollient
	Macadamia Ternifolia Seed Oil	5.000	Emollient
B	Centella Asiatica Extract Powder	2.930	Additive
C	Glycerin	25.000	Moisturizer
	Butylene Glycol	20.000	Moisturizer
	Centella Asiatica Leaf Extract	27.870	Additive
D	Sodium Hyaluronate	0.200	Additive
	1,2-Hexanediol	2.000	Preservative
Total		100.000	

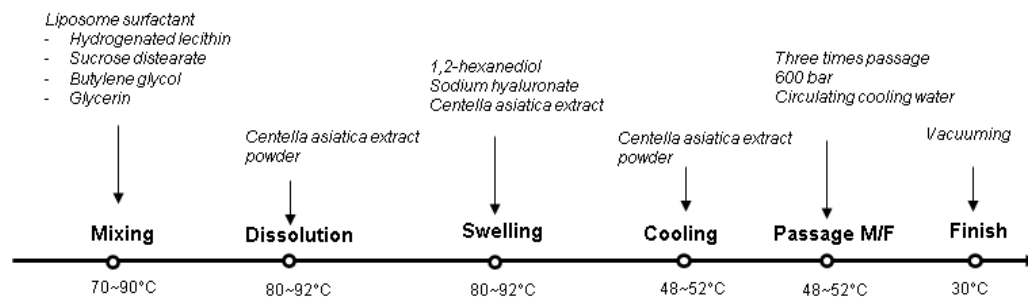


Fig. 2. Preparing method of liposome vesicles incorporated centella asiatica extract using MIZOAN[®] Sugar Cystal LC liquid crystal emulsifier.

하여 호모믹서로 10분간 교반하였다. 이것을 50℃까지 냉각하여 호모믹서로 5분간 추가 교반하고 이것을 고압마이크로플루다이에 3회 통과하여 리포솜 제조를 완료하였다. 이 공정을 통하여 완성된 리포솜을 내용을 간단 명료하게 표현하기 위하여 센텔라솜-10EX (MIZOAN® CentellaSome-10EX)라고 칭하였다.

2.4. 센텔라솜의 리포솜 형성 전자현미경 분석

Table 1 과 Fig. 2 에 나타난 제조 공법대로 제조한 MIZOAN® CentellaSome-10EX 를 함유한 리포솜 시료를 고배율주사전자현미경으로 분석하여 그 형성 구조를 메커니즘적으로 분석하였다. 전자현미경으로 측정하는 방법으로 Cryo-TEM 을 사용하여 -40℃이하로 동결건조하고, 이 시료를 기계적으로 잘라서 그 단면의 사진을 관찰하여 모양과 형성구조를 관찰하였다[19].

2.5. 센텔라솜-10EX 함유 크림 제조

본 연구의 임상평가를 실시하기 위하여 Table 2 에 나타난 바와 같이 센텔라솜-10EX 가 3%함유한 크림을 제조하였다. 이 시료의 유의성을 알아보기 위하여 센텔라솜-10EX 가 함유하지 않은 플라세보 (Placebo) 크림을 만들었다. Table 2 의 처방은 크림을 형성하는 여러가지 기재들이 효능

을 평가하는데 가급적 영향을 받지 않도록 하기 위하여 최소한의 원료로만 구성하여 처방을 개발하였으며, 피부 안전성을 고려하여 EWG 그린등급으로만 엄선하여 처방을 개발하였다. Solubil EWG-1100 은 폴리글리세릴-10 올리에이트와 폴리글리세릴-10 이소스테아레이트가 40:60 으로 혼합된 식물성 유화제이며, 센텔라솜-10EX 는 위의 Table 1 에서 얻어진 조성물이 여기에 해당된다.

이 크림의 제조방법은 우선 유상을 계량하여 80℃로 가온하여 별도 보관한다. 다른 비이커에 수상을 계량하여 80℃까지 가온한 후에 두 상을 혼합하여 호모믹서를 사용하여 4,000 rpm 에서 5 분간 교반하고, 이어서 L-알지닌을 넣어서 4,000 rpm 으로 3 분간 교반하여 중화반응시켰다. 이것을 45℃까지 냉각한 후에 첨가제를 투입하여 교반하고, 30℃까지 냉각 탈포하여 제조를 완료하였다. 플라세보 크림도 동일한 조건과 방법으로 제조하여 임상평가를 하는데 사용하였다.

2.6. 보습력 측정

보습력평가는 *in-vivo* 로 측정하였는데, 피검자는 30 대부터 50 대의 남녀 10 명을 대상으로 하여 아침과 저녁 2 회, 35 일 동안 지정된 눈가 부위에 약 0.2g 씩 마사지하듯 두드리면서 흡수시켰

Table 2. Composition of Centella Cream Formula with Placebo Cream in order to Evaluation;

*1 Solubil EWG-1100: High purity 60% Polyglyceryl-10 Oleate and 40% Polyglyceryl-10 Isostearate blended. *2 CentellaSome-10EX: Composition of Table 1

Phase	Ingredient Name	Placebo	CentellaSome Cream	Functions
Oil phase	Solubil EWG-1100*1	3.000	3.000	Surfactant
	Cetearyl Alcohol	8.000	8.000	Stabilizer
	Glyceryl Monostearate	1.000	1.000	Surfactant
	Capric/Caprylic Triglyceride	5.000	5.000	Emollient
	Hydrolyzed Polydecene	5.000	5.000	Emollient
Water phase	Butylene Glycol	5.000	5.000	Moisturizer
	1,2-Hexanediol	2.000	2.000	Preservative
	EDTA-2Na	0.100	0.100	Chelator
	Carbomer	0.300	0.300	Gelling Agent
	D.I. Water	70.300	67.300	Solvent
Neutralizer	L-Arginine	0.300	0.300	pH controller
Additive	CentellaSome-10EX*2	-	3.000	Active ingredient
Total		100.000	100.000	

Table 3. Physical Properties of Centella Asiatica Extract with Liposome Capsulation using Hydrogenated Lecithin and Sucrose Distearate

Terms	Specification Range	Results	Remarks
Appearance	Viscous Cream	Pass	Standard
Color	Light Yellowish Color	Pass	Standard
Odor	Odorless or Specific odor	Pass	Standard
pH	5~7.5	6.12	pH meter
Specific Gravity	0.99~1.20	1.09	Method 1
Acid Value	Below 5.0	0.35	1g, Method 1
Key ingredients	Centella asiatica extract (above 3%)	2.93	HPLC method
Purity Test			
Heavy metal (Pb)	Below 20ppm	N/D	ICP Method
Arsenic (As)	Below 2ppm	N/D	ICP Method
Microbiological test	Below 100 CFU/mL	N/D	KCID Method

다. 플라세보 크림은 우측 눈가 주위에 바르고, 센텔라좁크림은 좌측의 눈가 주위에 발랐다. 사용 기간은 5 주간 실시하였으며, 1 주일간격으로 방문하여 세안을 하고 1 시간동안 25° C, 습도 20%이하가 되도록 설정된 인큐베이션 룸에서 피부상태가 안정화되도록 한 다음 평가를 실시하였다. 피부측정 기간은 일주일에 1 회, 5 주간 측정

하여 피부에 존재하는 수분량이 증가되는 가를 평가하였다. 통계프로그램은 마이크로소프트 엑셀 paired *t-test* 프로그램을 사용하여 플라세보 대비 유의차가 있는 가를 비교 평가하였다. 이 임상 측정 방법은 하기의 피부 탄력도 개선효과, 주름개선효과, 피부 거칠기 개선효과에도 동일한 피검자를 대상으로 하여 실시하였다[20~22].

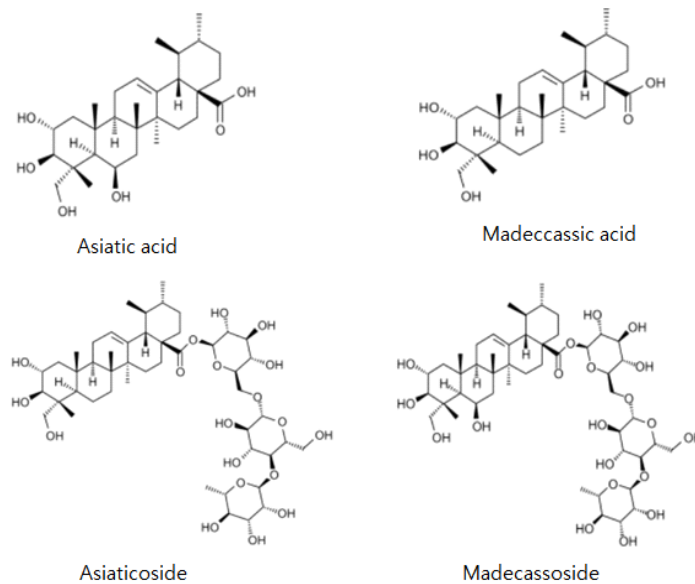


Fig. 3. Key four kind molecular structures of centella asiatica extract such as asiatic acid, madecassic acid, asiaticoside, madecassoside.

2.7. 피부 탄력도 측정

피부탄력 개선효과는 보습력측정 방법에서 선정된 피검자와 시료의 처치 방법은 동일하게 하여 평가하였다. 측정기기는 아라모-TS의 피부 평가장비에 탄력도 측정기능이 장착된 피부측정 장비를 별도의 개량없이 그대로 사용하여 측정하였다[21].

2.8. 잔주름 개선효과 평가

눈가피부의 잔주름 개선효과에 대한 측정법은 보습력측정법과 같은 피검자와 같은 방법으로 실시한 동일한 피검자를 대상자 그대로 사용하여 눈가주름의 두께와 주름의 수를 계산하여 플라세보와 함께 측정하였다. 측정기기는 아라모-TS의 피부평가장비에 잔주름을 측정하는 고배율의 렌즈와 분석 프로그램 소프트웨어가 장착된 컴퓨터를 사용하여 평가하였다[22].

3. 결과 및 고찰

3.1. 리포솜화 센텔라솜-10EX의 물리적 특성

일반적으로 화장품산업에서 활용되는 리포솜기술은 여러가지 방법이 있으나, 센텔라아시아티카정량추출물을 리포솜 베지클에 안정하게 봉입한 사례는 찾아보기 어렵다. 특히 고정제의 의약품등급의 센텔라아시아티카정량추출물의 구성성분의 분자구조를 Fig. 3에 상세하게 나타내었다. Fig. 3에 나타낸 바와 같이 아시아틱에씨드(asiatic acid), 아시아티코사이드(asiaticoside), 마테카식에씨드(madecassic acid), 마테카소사이드(madecassoside)는 트리테페노이드 계열의 원료로써 학술적으로 알려진 바에 의하면 항염증효과나 피부장벽 강화에 도움을 주는 것으로 알려져 있다 [20].

Table 1에 나타낸 조성표를 사용하여 개발된 리포솜 베지클의 최종 시료의 물성을 Table 3에 정리하여 나타내었다. 이 원료의 외관은 저점성의 크림상, 색상은 옅은 황색, 냄새는 원료 본연의 고유취를 가지고 있었다. 이 원료를 10%로 희석하여 측정한 pH는 약 6.12 이었으며, 비중은 1.09, 산가는 약 0.35으로 우수한 순도를 가지고 있음을 알 수 있었다.

이 리포솜 베지클에 함유된 센텔라아시아티카정량추출물은 4가지 주성분으로 나누어지는데, 구성된 함량을 분석한 결과 10,800ppm의 아시아

틱에씨드, 10,900ppm의 아시아티코사이드, 6,000ppm의 마테카식에씨드, 1,600ppm의 마테카소사이드가 함유된 센텔라솜-10EX를 개발하여 완성할 수 있었다. 이 원료는 장기간 보관시에도 변색이 없었고, 열역학적으로 주성분이 유지되고 있음을 알 수 있었다.

3.2. 센텔라솜-10EX의 리포솜 형성구조 전자현미경 분석결과

Table 과 Fig. 2의 제조법으로부터 얻어진 센텔라솜-10EX의 리포솜 베지클의 구조를 메커니즘적으로 분석하기 위하여 투과전자현미경(Cryo-TEM)으로 센텔라솜을 분석 관찰한 결과를 Fig. 4에 사진으로 나타내었다. 사진에서 보는 바와 같이 리포솜 베지클 형성되었고, 그 중심에는 다중층막이 형성되어 수분으로 채워져 있었고, 다중층막의 외곽주변으로는 10~60여층의 다중층의 리포솜형태의 라멜라 베지클로 감싸여져 있음을 확인하였다. 이 구조는 사람의 피부 각질층의 구조와 유사한 구조를 가지고 있다고 할 수 있으며, 유사구조를 가지고 있기 때문에 피부흡수가 빠르고, 밀착감이 좋아지며, 피부를 보호하는 작용이 가능할 것으로 고찰할 수 있다.

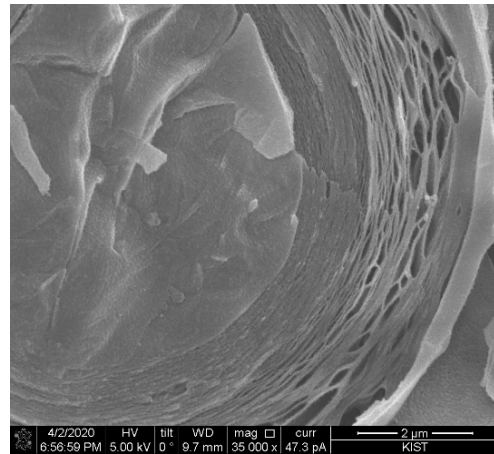


Fig. 4. Picture of liposome multi lamellar vesicles of CentellaSome-10EX using hydrogenated lecithin and sucrose distearate measured by Cryo-TEM analysis.

사진에서 보이는 것처럼 다중층의 라멜라막이 형성되는 것은 MIZOAN[®] Sugar Crystal LC의

조합이 잘 이루어져, 물과의 수용액 상태에서 스웰링 반응이 잘 이루어 졌기 때문에 안정적인 구조가 형성되는 것으로 고찰할 수 있었다. 이렇게 하여 얻어진 완성물을 센텔라쑈-10EX라고 칭하였으며, 센텔라아시아티카정량추출물이 이 다중층의 막 사이에 패키징되어 안정한 상태로 유지되고 있는 것으로 고찰하였다. 이는 성분의 결정과 합일을 막아주고, 장기간 보존의 안정성을 확보해 주는데 기여할 것으로 기대한다. 또한 피부에 도포시 피부의 밀착성을 높여 주기 때문에 경피흡수가 용이하게 이루어 질 것으로 판단되고 상처부위 혹은 약건성피부에 사용시 피부개선효과가 유의미하게 있을 것으로 사료되어 본 연구에서 깊이 있는 실험을 실시하고자 한다. 향후에는 이 원천 제조기술을 사용하여 다양한 약물을 봉입할 수 있을 것으로 기대되며, 약물의 경피흡수도 용이하게 할 수 있어서 다양한 분야의 응용이 될 것으로 기대한다.

3.3. 피부보습력 *in-vivo* 측정 결과

피부보습력은 Table 2에 나타난 처방으로 하여 피검자 10명을 대상으로 하여 피부 수분함량을 측정한 결과를 가지고 보습력을 평가한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 보습력 측정은 5주 동안 1주 간격으로 측정하였는데 도포전의 보습력은 16.7%이었고, 1주후에는 18.2%가 증가하여 도포전보다 9.6%가 증가한 것을 알 수 있었고, 플라세보는 2.99%정도 보습력이 개선되는 것으로 나타났다. 플라세보 크림은 1일 2회 아침과 저녁으로 바른 군에서의 5주 경과 후에 피부 보습력

은 도포전보다 7.78% 개선되었으며, 센텔라쑈 크림은 28.3%로 플라세보 보다 유의차 있게 보습력이 증가된 것을 확인 할 수 있었다. 이 크림을 지속적으로 피부에 바를 경우 5주간의 결과보다 더욱 우수한 효과가 있을 것으로 기대하며, 화장품으로 공업화하여 소비자들에게 호감을 주는 제품으로 거듭날 것으로 전망하고 있다.

3.4. 피부탄력도 *in-vivo* 임상시험 결과

피부탄력 개선효과는 Table 2에 나타난 처방으로 하여 피검자 10명을 대상으로 하여 피부 수분함량을 측정한 결과를 가지고 피부탄력도를 평가하여 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 센텔라쑈 크림에 대한 피부탄력도 측정은 5주 동안 1주 간격으로 측정하였는데 도포전의 탄력성은 38.2이었고, 2주 후에는 39.7로 3.92%가 개선되는 것을 알 수 있었다. 플라세보 크림의 사용 5주 후의 피부 탄력성은 도포전보다 1.57% 정도 미미하게 개선되었으며, 5주 경과 후의 센텔라쑈 크림은 13.6%로 플라세보 보다 유의차 있게 보습력이 증가된 것을 확인 할 수 있었다.

3.5. 눈가 피부주름개선 및 피부 거칠기 개선 *in-vivo* 임상 시험 결과

3.5.1. 눈가 피부주름개선 효과 시험결과

눈가의 피부주름 개선효과는 Table 2에 나타난 처방에 피검자 10명을 대상으로 하여 주름의 깊

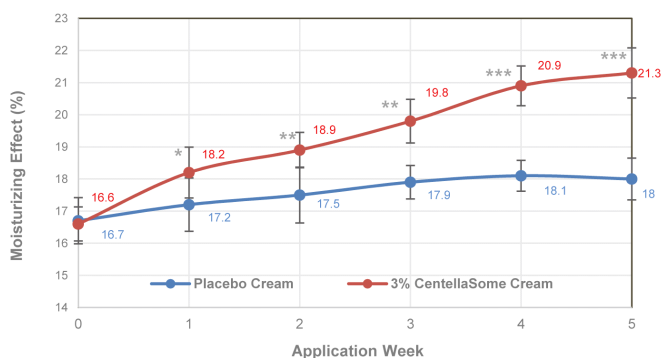


Fig. 5. Moisturizing activity of 3% CentellaSome cream versus placebo cream after application 5 weeks measured by water content analyzer (Aramo-TS); * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

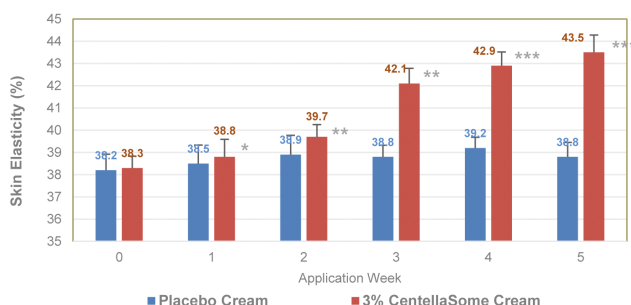


Fig. 6. Skin elasticity of 3% CentellaSome cream versus placebo cream after application 5 weeks measured by water content analyzer (Aramo-TS); * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

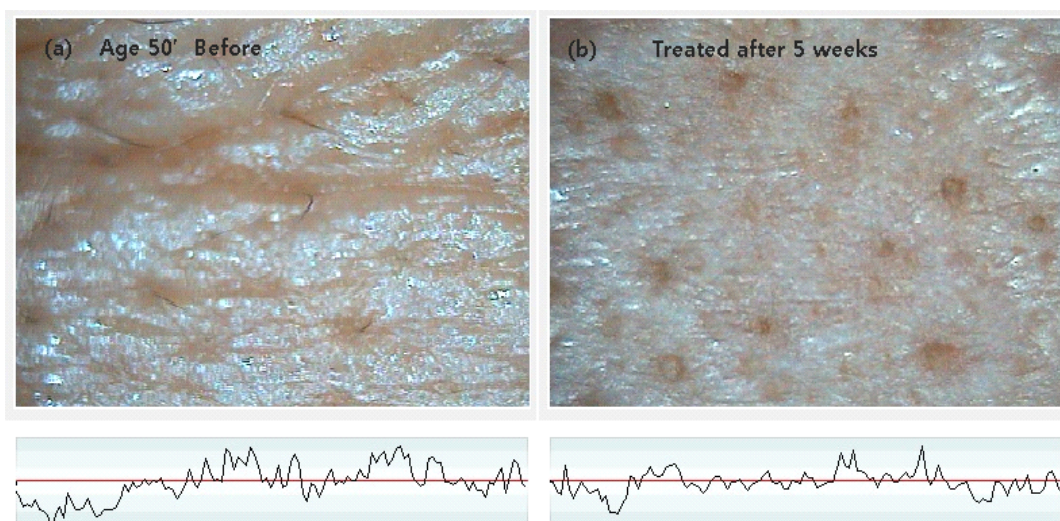


Fig. 7. Eye zone fine wrinkle improvement effect of 3% CentellaSome cream versus placebo cream after application 5 weeks measured by anti-wrinkle analyzer (Aramo-TS); (a): aged 50' man eyezone wrinkle and wrinkle depth of before treatment, (b): eyezone wrinkle picture and wrinkle depth of after application, $p < 0.05$.

이와 길이를 계산하여 측정된 결과를 가지고 잔 주름개선도를 *in-vivo*로 평가하였다. 그 결과를 Fig. 7에 실제 피부사진과 주름곡선을 이해하기 쉽도록 나타내었다. 이 결과는 플라세보는 생략하고 센텔라솜크림만 제시한 결과이다. 50대의 피부를 촬영한 사진으로 도포전의 사진은 깊은 주름과 잔주름이 혼재되어 있는 것으로 나타났으며, 일정 지점까지의 총 길이는 42 (Fig. 7 (a))로 나타났다. 한편 센텔라솜 크림 사용 5주 후의 눈가 피부 잔주름 개선도는 Fig. 7 (b)와 같이 굵은 주

름이 작아졌으며, 주름의 깊이나 길이를 총체적으로 계산한 결과는 34로 8정도가 감소되는 것으로 보아 주름이 약 23.52%가 개선되는 효과가 있는 것으로 나타났다. 이 결과는 $p > 0.05$ 범위에서 유의차 있게 개선되는 결과를 얻을 수 있었다.

3.5.2. 피부거칠기 개선 효과 시험결과

눈가의 피부 거칠기 개선효과는 Table 2의 처방을 가지고 도포전과 센텔라솜 크림을 5주 동안 사용한 후의 피부를 테이프 스트리핑하여 (tape

striping)하여 피부 표면의 각질시료를 채취하였다. 이 시료에 프루시안블루 1%용액으로 염색하여 1시간동안 건조한 후 광학현미경으로 관찰하여 거칠기 정도를 측정하였다. 그 결과를 Fig. 8에 나타내었다. Fig. 8의 (a)와 (b)는 50대의 피부각질상태이며, (c)와 (d)는 40대의 피부각질, (e)와 (f)는 30대의 피부각질로 사용전과 5주간 사용후의 각질상태를 현미경으로 관찰한 결과를 보여주고 있다. Fig. 8의 50대의 각질은 두껍고 많은 양이 떨어져 나오는 것을 알 수 있으며, 5주 동안 사용 후의 피부상태는 육각형의 피부세포 모양을 형성하여 건강한 각질로 탈락되는 것으로 이해할 수 있었다.

40대의 피부는 사용전의 각질은 불규칙하며 크기가 약간 작고 거칠게 느껴졌으나, 5주동안 사

용한 후의 각질 상태는 비교적 일정한 크기와 두께로 탈락되는 것으로 보아 사용전보다 피부 거칠기가 많이 개선된 것을 확인할 수 있었다. 또한 30대의 피부각질은 아직 노화가 많이 진행되지 않았기 때문에 사용전과 사용 후의 각질상태의 변화도를 판정하기 어려웠다. 이것을 수치적으로 표현하기는 어려운 점이 있었으나, 주름의 깊이와 거리를 측정한 결과를 토대로 계산해볼 때 플라세보 크림과 비교할 경우 약 23.5%정도 개선되었다는 것을 알 수 있었다.

결과적으로 센텔라좀크림을 5주동안 사용할 경우에 눈가의 잔주름이 개선되는 효과를 보였으며, 피부 거칠기도 개선되었다는 것을 이 연구 결과를 통하여 알 수 있었다.

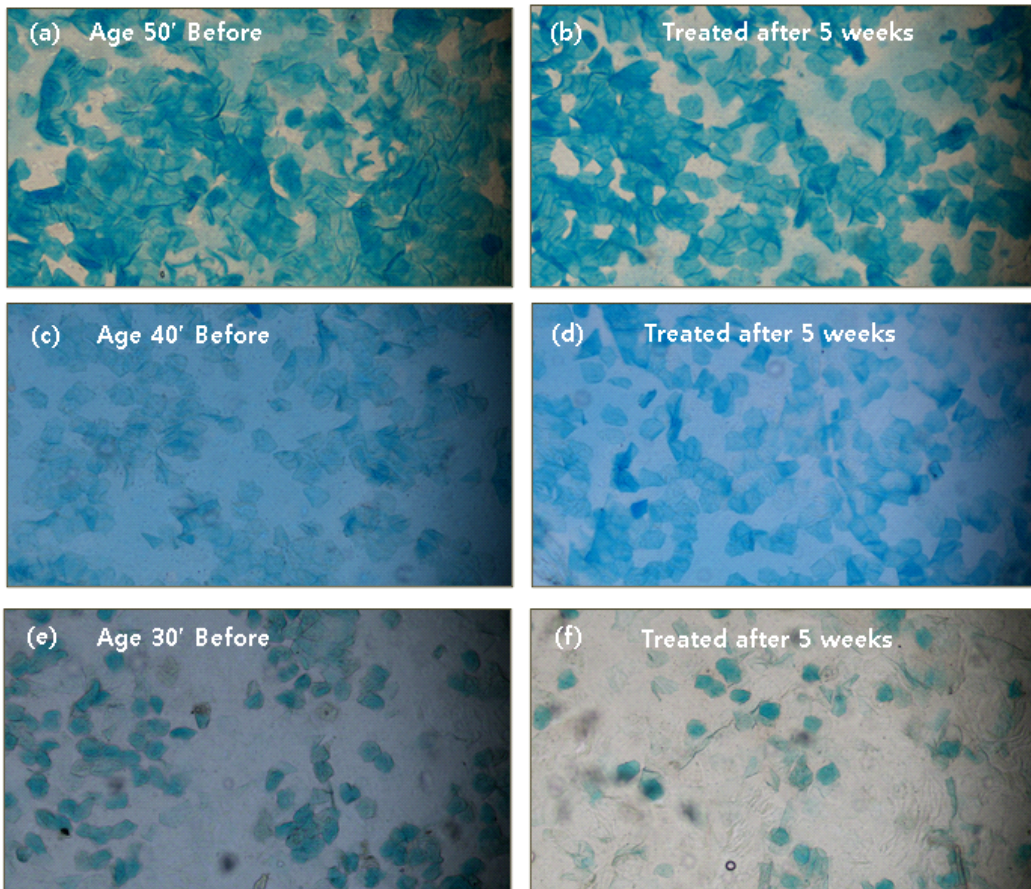


Fig. 8. Pictures of liquid crystal structures depend on the pH changes observed by polarized microscopic conditions; pH changes pH=3.8, 7.2, 10.8, usage 3.5wt% surfactants, magnification x 200.

따라서 이 연구 결과를 통하여 개발된 센텔라솜-10EX의 리포솜 베지클에 봉입 안정화하는 처방과 제조방법에 대하여 연구할 수 있었으며, 이를 이용한 크림에 대한 주름 개선효과 등의 임상 연구를 통하여 얻어진 결과들이 화장품 산업에 있어서 피부과학을 연구하고, 고 효능을 가진 고품격 화장품을 개발하는데 폭넓게 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

4. 결론

본 연구에서는 의약품과 화장품에 사용되는 고순도의 센텔라아시아티카정량추출물을 리포솜화하는 방법과 이를 이용한 크림을 개발하여 주름 개선에 대한 임상평가(*in-vivo*)에 대하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째; 리포솜 라멜라 베지클에 센텔라아시아티카정량추출물을 안정화시킨 센텔라솜-10EX을 만들기 위하여 MIZOAN[®] Sugar Crystal LC를 사용하여 완성시킬 수 있었다.

둘째; 센텔라솜-10EX의 외관은 저점성의 크림상, 색상은 옅은 황색, 냄새는 원료 본연의 고유취가 있었다. 물성적 측면에서 pH는 약 6.12 이었으며, 비중은 1.09, 산가는 약 0.35으로 우수한 순도를 가지고 있었다.

셋째; 리포솜 베지클에 함유된 센텔라아시아티카정량추출물의 주성분의 함량은 10,800ppm의 아시아티카에씨드, 10,900ppm의 아시아티코사이드, 6,000ppm의 마테카식에씨드, 1,600ppm의 마테카소사이드가 함유하고 있었으며, 장기간 보관 시에도 변색이 없고, 열역학적으로 주성분이 안정하게 유지되고 있음을 알 수 있었다.

넷째; 센텔라솜-10EX의 리포솜 베지클의 구조를 메커니즘 적으로 분석하기 위하여 투과전자현미경 (Cryo-TEM)으로 관찰한 결과 다중층막이 형성되어 수분으로 채워져있고, 외곽주변으로는 10~60여층의 다중층의 리포솜 라멜라 베지클 형성되어 있음을 확인할 수 있었다.

다섯째; 센텔라솜 크림의 5주동안 바른 후의 보습효과는 플라세보 크림은 도포전보다 7.78% 개선되었으며, 센텔라솜 크림은 28.3%로 플라세보 보다 유의차 있게 증가되었다.

여섯째; 피부 탄력효과는 플라세보 크림은 도포전보다 1.57%로 미미하게 개선되었으며, 센텔라솜 크림은 13.6%로 플라세보 보다 유의차 있

게 보습력이 증가된 것을 확인 할 수 있었다.

일곱째; 눈가의 피부잔주름 개선효과는 플라세보 크림보다 23.52%가 개선되는 효과를 보였다. 또한, 피부 거칠기 개선효과는 5주동안 사용한 후의 각질 상태가 비교적 일정한 크기와 두께로 형성되어 있는 것으로 보아 사용전보다 피부 거칠기가 개선된 것을 확인할 수 있었다.

이 연구 결과를 통하여 개발된 센텔라솜-10EX의 리포솜 베지클에 센텔라아시아티카정량추출물을 봉입 안정화하는 처방과 제조방법에 대하여 깊이 있게 연구할 수 있었으며, 이를 이용한 크림에 대한 보습효과, 탄력도 개선효과, 주름개선효과, 거칠기 개선효과 등의 임상 연구를 통하여 얻어진 결과들이 화장품 산업에 있어서 피부과학을 연구하고, 고 효능을 가진 고품격 화장품을 개발하는데 폭넓게 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

References

1. G. T. Lee, K. S. Lee, H. J. Cha, S. K. An, S. Y. Kim, K. J. Ahn, K. K. Lee, "Synergetic protective effects against oxidative stresses by co-treatment of centella asiatica and follic acid-ferment extracts and phytosphingosine-1-phosphate in human dermal fibroblasts", *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, Vol.12, No.6, pp.853-858, (2014).
2. Y. M. Koo, Y.S. Gil, S. M. Shin, D. Y. Lee, "Analysis of antibacterial, anti-inflammatory, and skin-whitening effect of Centella asiatica (L.) Urban", *Journal of Plant Biotechnology*, Vol.45, No.2, pp.117-124, (2018).
3. I. Y. Kim, C. K. Zhoh, H. C. Ryu, "Liquid crystalline technology of cosmetic industry and moisturizing effect of skin", *J. Soc., Cosmet. Scientist Korea*, Vo.30, No.2, pp.279, (2004).
4. M. J. Lee, N. H. Jeong, B. S. Jang, "Preparation and properties of soybean lecithin liposome using supercritical reverse phase evaporation method", *J. of*

- The Korean Oil Chemists' Soc.*, Vol.27, No.4, pp.391-398, (2010).
5. N. R. Cameron, D. C. Sherrington, L. Albiston, D. P. Gregory, "Study of the formation of the open-cellular morphology of poly(styrene/divinylbenzene) polyHIPE materials by cryo-SEM", *Colloid and Polymer Science*, Vol.274, pp.592-595, (1996).
 6. Chuandi Sun, Ji Wang, Jianping Liu, Lu Qiu, Wenli Zhang, Lei Zhang, "Liquid proliposomes of nimodipine drug delivery system: preparation, characterization, and pharmacokinetics", *AAPS PharmSciTech*, Vol.14, pp.332-338, (2013).
 7. Anil K, Singh Joydip Das, "Liposome encapsulated vitamin a compounds exhibit greater stability and diminished toxicity", *Biophysical Chemistry*, Vol.73, No.1, pp.155-162, (1998).
 8. E. C.Cho, H. J. Lim, J. W. Shim, J. H. Kim, I. S. Chang, "Improved stability of liposome in oil/water emulsion by association of amphiphilic polymer with liposome and its effect on bioactive skin permeation", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol.299, No.1, pp.160-168, (2007).
 9. S. K. Cho, Park, Kim, D. A. Lee, D. W. Kim, Y. Jeong, "Preparation of camel milk liposome and its anti-aging effects", *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol. 40. No.2, pp.155-162, (2014).
 10. S. H. Jeon, D. H. Yi, "Effects of alliin on cellular protection, up-regulation of collagen and down-regulation of MMP1 in human dermal fibroblasts", *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, Vol.12 No.2, pp.249-258, (2014).
 11. H. S. Hwang, T. H. Hwang, A. J. Pyo, E. H. Ju, "Anti-oxidant efficacy and effects on expression of growth factors in human hair follicle dermal papilla cells of rosa multiflora root extracts", *Asian J. Beauty Cosmetol*, Vol.15, No.2, pp.146-158, (2016).
 12. J. S. Lee, E. S. Jung, Y. G. Kim, J. H. Park, J. I. Park, S. T. Hong, J. E. Kim, C. G. Hyun, Y. S. Kim, D. H. Park, "Asiaticoside induces human collagen-I synthesis through TGF β receptor-I kinase (T β RI Kinase)-independent smad signaling", *Biochemistry and Molecular Biology*, Vol.72, NO.4, pp.324-328, (2006).
 13. G. J. Strijkers, W. J. M. Mulder, R. B. van Heeswijk, P. M. Frederik, P. Bomans, P. C. M. M. Magusin, K. Nicolay, "Relaxivity of liposomal paramagnetic MRI, contrast agents", *MAGMA*, Vol.18, pp.186-192, (2005).
 14. J. M. Jensen, S. P. Dipl Ing, M. Witt, M. Brautigam, C. Neumann BTA, M. Weichenthal, T. R. Folster-Holst, E. Proksch, "Different effects of pimecrolimus and betamethasone on the skin barrier in patients with atopic dermatitis", *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Vol.124, No.3, pp. 19-28, (2009).
 15. M. J. Kim, J. Y. Kim, S. W. Choi, J. T. Hong, K. S. Yoon, "Anti-wrinkle effect of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed extract (II)", *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol.30, No.4, pp.449-456, (2004).
 16. S. I. Park, G. M. An, M. G. Kim, S. H. Heo, M. S. Shin, "Enhancement of skin permeation of wrinkle improvement peptides GHKs using liposomes containing skin penetrating peptides", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.36, No.3, pp.853-865, (2019).
 17. J. Kim, M. J. Kim, K. Y. Lee, "Wound healing effect of curcumin gel for transdermal delivery", *Polymer (Korea)*, Vol.37, No.3, pp.387-392, (2012).
 18. I. Y. Kim, E. H. Nam, M. S. Shin, "A study on the formation of lamellar liquid crystalline using skin mimicking surfactant", *J. of the Korean Applied*

- Science and Technology*, Vol. 37, No.3, pp.484-495, (2020).
19. J. S. Park, G. S. Yang, S. K. Kang, "Comparison of the skin moisture elasticity and roughness of young people in a babyhood childhood and adolescence period, *The Korean Society for Aesthetics and Cosmetology*, Vol.6, No.2, pp.1-9, (2009).
 20. K. H. Lim, J. Y. Ryu, I. S. An, G. Y. Kim, J. M. Lee, "Anti-wrinkle effects of irregularity low-frequency stimulation", *The Korean Society for Aesthetics and Cosmetology*, Vol.7, No.2, pp.137-148, (2009).
 21. M. N. Lee, K. W. Yang, I. H. Lee, "Assessment of efficacy of 5nm-class nano gold essence cosmetics", *AJBT*, Vol.14, No.3, pp.259-266, (2016).
 22. C. J. Kang, G. U. Seong, S. K. Chung, "Optimization of extraction conditions of corni fructus for functional materialization", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.25, No.6, pp.676-681, (2018).