J. Soc. Cosmet. Sci. Korea
Vol. 47, No. 2, June 2021, 179-184

pISSN 1226-2587
eISSN 2288-9507
http://dx.doi.org/10.15230/SCSK.2021.47.2.179

Serine의 인공피부조직 투과 개선을 위한 Stearic Acid 기반 고형지질나노입자의 설계 연구

여 수 호†

중앙대학교 약학대학, 박사

(2021년 5월 11일 접수, 2021년 6월 5일 수정, 2021년 6월 15일 채택)

A Study on the Design of Stearic Acid-Based Solid Lipid Nanoparticles for the Improvement of Artificial Skin Tissue Transmittance of Serine

Sooho Yeo†

College of Pharmacy, Chung-Ang University, 84 Heukseok-ro, Dongjak-gu, Seoul 06974, Korea

(Received May 11, 2021; Revised June 5, 2021; Accepted June 15, 2021)

요 약: 각질층은 피부의 가장 바깥쪽에 위치하여 피부 내 수분을 유지시킨다. 피부 보습은 각질층 내 천연보습인자(natural moisturizing factors, NMF)에 의존하는데, NMF 중 아미노산이 가장 많은 비율을 차지한다. 본 연구에서는 NMF 중 serine (Ser)의 피부 투과율을 개선시키기 위해 생체 적합한 고형지질인 stearic acid 기반 고형지질나노입자(solid lipid nanoparticles, SLNs)를 설계하였다. Ser 봉입 SLNs은 이중 가온용융유화법으로 제조하였다. 평균 입자 크기는 256.30 ~ 416.93 nm이었고 제타전위는 −17.60 ~ −35.27 mV이었다. 유화제의 지용성 또는 친수성의 정도가 각각 높아질수록 입자크기 작아지고 안정성 및 봉입율이 높아지는 경향을 보였다. Ser의 피부 투과 연구를 위해 인체 표피 유래 피부 조직(SkinEthic^{TM} RHE)을 사용하였다. Ser의 피부 투과 결과 SLN을 적용한 제형이 대조군인 Ser 용액에 비해 약 4.1 ~ 6.2 배 투과율이 개선되었음을 확인하였다. 유화제의 지용성 또는 친수성의 정도가 각각 높아질수록 Ser의 피부 투과율이 높아지는 경향을 보였다. 따라서, Ser이 봉입된 SLN은 기능성화장품의 보습효과 처방을 위한 경피흡수 제형으로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

Abstract: Stratum corneum known as a skin barrier, which maintains water in skin, is the outer layer of the skin. Natural moisturizing factors (NMF) are one of the constituents in stratum corneum and amino acids are the highest components among NMF. In this study, we designed stearic acid-based solid lipid nanoparticles (SLNs) for improved skin penetration of serine (Ser). Ser-capsulated SLN was manufactured by double-melting emulsification method. The mean particle size and zeta potential of SLNs were 256.30 ~ 416.93 nm and -17.60 ~ -35.27 mV, respectively. The higher the degree of hydrophobicity or hydrophilicity of emulsifiers, the smaller the particle size and the higher the stability and capsulation rate. In addition, skin penetration was conducted using SkinEthic^{TM} RHE which is one of the reconstructed human epidermis models. The results of Ser penetration demonstrated that all SLNs enhanced than serine solution. The amount of enhanced Ser penetration from SLNs were approximately 4.1 ~ 6.2 times higher than that from Ser solution. Therefore, Ser-loaded SLN might be a promising drug delivery system for moisturizing formulation in cosmeceutical.

Keywords: *serine, solid lipid nanoparticles, natural moisturizing factors, penetration, SkinEthic RHE^{TM}*

† 주 저자 (e-mail: sooho32@hanmail.net)
call: 02-820-5606

1. 서 론

사람의 피부 구조는 크게 표피, 진피, 피하조직으로 나눌 수 있으며, 표피는 각질층, 투명층, 과립층, 가시층, 기저층으로 나눌 수 있다. 이 중 각질층은 피부의 가장 바깥쪽에 위치하여, 피부 내 수분을 유지시키고 외부 환경으로부터 피부를 보호한다[1-3]. 각질층은 케라틴, 지질, 천연보습인자(natural moisturizing factor, NMF)로 구성되어 있다. 피부의 보습력은 특히 NMF에 의존하는데, NMF에는 amino acids (40%), pyrrolidone carboxylic acid (12%), lactate (12%)등 다량의 수용성 물질을 포함하고 있어 피부 각질의 수분 보유량을 유지하며 피부가 건조되는 것을 방지한다[4,5].

NMF 내 amino acid 중 serine (Ser)은 그 화학구조 상 hydroxyl group, primary amine group 등 친수성을 띠며 물분자와 수소결합을 할 수 있는 관능기를 가지고 있어 피부 보습력을 강화시킬 수 있다[6]. 그러나 Ser은 수용성 약물로 피부 침투력에 어려움이 있다.

1991년 Lucks 등에 의해서 고형지질나노입자(solid lipid nanoparticles, SLNs)가 도입되었는데, SLNs은 기존의 리포좀이나 에멀젼 제형과는 달리 입자 내부가 지질 매트릭스로 구성되어 비교적 높은 약물 봉입율을 갖는다[7]. SLNs은 제조과정 중 유기용매를 사용하지 않아 생체 안전성이 높고, 생체 적합성 지질을 매트릭스로 사용할 수 있어 Ser의 피부 투과에 유리할 것이다. 또한 피부에 SLNs을 적용하면 얇은 지질막을 형성하여 경피 수분 손실을 예방할 수 있다.

피부 흡수 시험의 경우 기존에는 rat과 같이 동물을 희생하여 rat 피부에서 진행하였으나, EU, 미국 및 호주 등지에서 동물실험을 금지하였고, 국내에서는 식품의약품안전처에서 화장품의 생체외 피부 흡수시험의 동물대체 가이드라인을 마련하여 국내에 보급하고 있다. 이에 사용되는 조직은 인체 피부 유래 피부 조직(SkinEthic™ RHE)이다. 따라서 본 피부 투과 시험에서 인공피부 조직을 사용하여 Ser의 피부 투과를 측정하였다[8,9].

본 연구에서는 피부 내 NMF 성분인 Ser을 SLNs에 봉입한 후 인공피부 조직을 사용하여 약물의 피부 투과율을 평가하였다. 약물의 봉입율과 투과율을 높이기 위해서 고형지질에 다양한 유화제를 사용하여 SLNs을 제조하였고, 제조된 SLNs의 물리화학적인 특성을 파악하기 위해 입자 크기 및 제타포텐셜을 측정하였다.

2. 재료 및 실험

2.1. 재 료

본 연구에서 Ser 봉입 SLNs을 제조하고 평가하기 위해 L-serine (순도 99.5%), thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT), dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma-Aldrich, USA), stearic acid (SAMCHUN, Korea), poloxamer 188, poloxamer 407 (BASF, Germany), Span 20, Span 40, ninhydrin (Dae Jung Co. Ltd., Korea), SkinEthic™ RHE (SkinEthic Laboratories, France), phosphate-buffered saline (PBS) (Tech & Innovation, Korea), CCD-986sk (Korea Cell Line Bank, Korea)을 사용하였다.

2.2. Ser 봉입 SLNs의 제조

Ser 함유 SLNs은 Gönüllü 등의 W/O/W 에멀젼 방법을 참고로 하여 제조하였다[10]. Ser, 고형지질, 유화제의 함량은 Kim 등의 연구와 Yeo 등의 연구를 참고로 하였고, SLNs은 계면활성제의 종류를 변화시켜 Table 1과 같이 제조하였다[13,14]. Stearic acid와 Span 40을 함유한 유상을 용융점보다 높은 온도인 80 ~ 90 ℃에서 용융시켰고, 동일 온도에서 가온된 Ser 1%를 함유하는 수상을 유상에 가하여 W/O의 조에멀젼(pre-emulsion) 상태를 만들고 high speed homogenizer (Ultra-Turrax T18, IKA, Germany)로 약 2 min 동안 5,000 rpm에서 고속교반을 시켰다. 이것을 최외상인 poloxamer 188 수용액에 가하고 다시 약 2 min 동안 1,000 rpm에서 고속교반 시켜 W/O/W 에멀젼을 형성시켰다. 형성된 W/O/W 에멀젼을 high pressure homogenizer (NanoDeBEE homogenizer, BEE International, USA)로 20,000 psi에서 3 cycles로 처리한 후 상온에서 냉각하여 SLNs을 제조하였다. 계면활성제의 종류별 SLNs의 비교를 위해 Table 1의 조성

Table 1. The Composition of Serine-loaded Solid Lipid Nanoparticles

	Formulation	F1	F2	F3	F4
Drug	Serine (%)	1	1	1	1
Solid lipid	Stearic acid (%)	5	5	5	5
Surfactant	Poloxamer 407 (%)	3	3		
	Poloxamer 188 (%)			3	3
	Span 20 (%)	2		2	
	Span 40 (%)		2		2
Distilled water (%)		89	89	89	89
Total (%)		100	100	100	100

대로 SLNs을 제조하였다.

2.3. SLNs의 입자크기 및 제타전위 측정

샘플을 정제수로 10 배 희석한 후 Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., UK)를 사용하여 평균 입자크기 및 제타전위를 측정하였다. 측정시 한 시료마다 3 회 반복하여 측정하였다.

2.4. SLNs 내 Ser의 봉입율 측정

Ser의 봉입율 측정은 Gönüllü 등의 방법을 참고로 하여 측정하였다[10]. 제조한 Ser 함유 SLNs의 현탁액을 Gyrozen 1580 MGR 초원심분리기(Gyrozen Ltd., Korea)를 이용하여 24,000 g에서 4 ℃를 유지한 상태에서 2 h 동안 초원심분리를 하였다. 상등액을 ninhydrin 분석으로 정량하였다. 얻어진 결과를 아래의 식에 대입하여 약물의 봉입율과 봉입효율을 산출하였다.

$$\text{Loading effciency} = \frac{\text{Mass of encapsulated drug}}{\text{Mass of drug initially added}} \times 100$$

$$\text{Loading amount} = \frac{\text{Mass o encapsulated drug}}{\text{Mass of nanoparticles}} \times 100$$

2.5. *In Vitro* 세포독성 평가

세포 생존율 측정은 Carmichael 등의 방법에 따라 측정하였다[12]. 섬유아세포(CCD-986sk)을 96 well plate에 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ cells/well이 되게 0.18 mL 분주하고, 각 샘플 0.02 mL을 첨가하고 15 min 동안 노출시켰다. PBS로 샘플을 씻어낸 후 37 ℃, 5% CO_2 incubator (MCO-18AC, Panasonic, Japan)에서 24 h 배양하였다. 5 mg/mL 농도로 제조한 MTT 용액 0.02 mL를 첨가하여 4 h 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO 0.15 mL를 가하여 실온에서 30 min 동안 반응시킨 뒤 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 독성 측정은 PBS를 대조용액으로 하여 아래의 식에 대입하여 산출하였다.

$$\text{Viability} = \frac{\text{MeanOD}_{\text{treated}}}{\text{MeanOD}_{\text{control}}} \times 100$$

2.6. SkinEthic™ RHE 조직을 사용한 *In Vitro* 피부 투과

Ser의 피부 투과는 인체 피부 조직인 SkinEthic™ RHE를 사용하였다. 24 well plate 내 insert에 배양된 SkinEthic™ RHE 조직을 insert와 함께 receptor medium (PBS, pH 7.3) 3 mL/well이 있는 6 well plate에 옮긴 후 각 샘플의 0.3 mL을 insert 내에 있는 SkinEthic™ RHE 피부 조직에 적용한다. 샘플이 적용된 SkinEthic™ RHE 조직을 incubator shaker (NB-101SRC, N-BIOTEK, Korea)에서 37 ± 0.5 ℃, 0.5% CO_2 조건에서 100 rpm으로 진탕하였다. 0.5, 1, 2, 4, 8 h 간격으로 recepter medium 1 mL를 채취하여 ninhydrin 분석으로 정량하였다.

2.7. SkinEthic™ RHE 조직을 사용한 *In Vitro*피부 침적

In vitro 투과 후 insert 내 SkinEthic™ RHE 조직을 insert에서 분리하여 2 mL의 maintenance medium이 담긴 유리바이알에 넣고 high speed homogenizer를 사용하여 1,000 rpm에서 균질하였다. 균질된 각 샘플을 0.45 μm PTFE 실린지 필터로 거른 후 ninhydrin 분석으로 정량하였다.

2.8. Ninhydrin Assay

Ser의 함량은 ninhydrin assay로 분석하였다. 1 mL의 샘플에 0.5 mL의 ninhydrin 용액을 첨가한 후 교반시켰다. 100 ℃에서 15 min 동안 ninhydrin 반응을 진행하였다. 반응된 용액에 5 mL의 95% 에탄올을 첨가한 후 96 well 플레이트에 분주하여 microplate reader (Flextation 3; Molecular Devices, Sunnyvale, USA)에서 570 nm의 흡광도를 측정하여 정량하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Ser이 봉입된 SLNs의 입자크기 및 제타포텐셜 측정 결과

이중 에멀젼 가온용융화법으로 제조한 Ser 봉입 SLNs의 평균 입자 크기는 F1, F2, F3, F4 순으로 각각 416.93, 380.30, 296.38, 256.30 nm이고, 입자의 평균 다분산 지수(polydispersity index, PDI)는 0.23, 0.22, 0.20, 0.19이다. 입자의 평균 제타전위는 -17.60, -24.77, -29.77, -35.27 mV이다 (Figure 1). SLN의 PDI가 0.2 내외이므로 입자가 균일하다는 것을 확인하였다[10,11]. Poloxamer 407을 사용한 SLN 제형 보다 poloxamer 188을 사용한 제형이, Span 20을 사용한 SLN 제형보다 Span 40을 사용한 제형이 상대적으로 입자 사이즈가 작아지고 제타전위는 높아지는 것으로 나타났다. 또한 입자 사이즈와 제타전위 값 차이의 정도는 지용성 유화제 보다 친수성 유화제가 더 큰 것으로 나타났

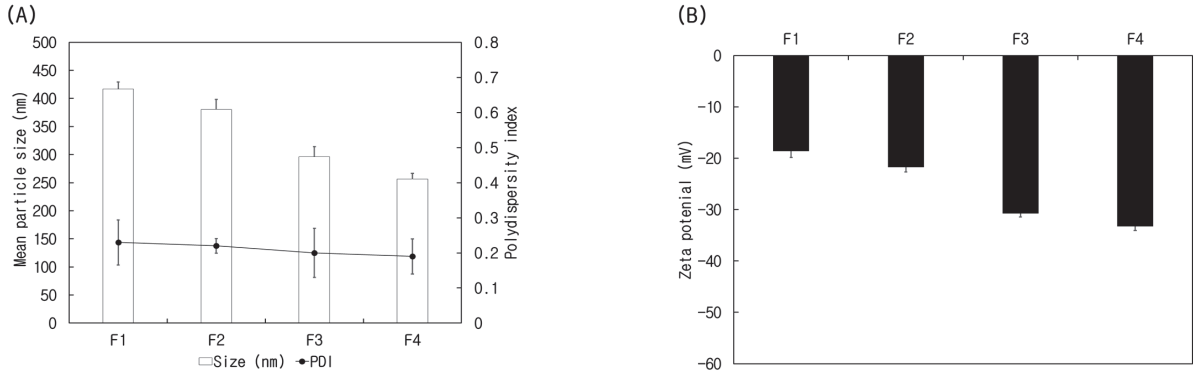

Figure 1. (A) Average particle size, polydispersity index (PDI), and (B) zeta potential of the Ser-loaded SLNs. Results are expressed as the means ± SD of three independent experiments (N = 3).

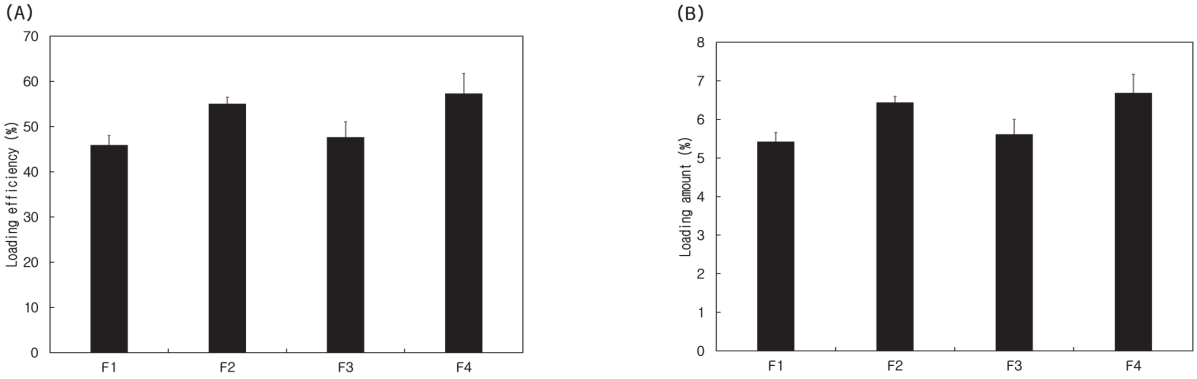

Figure 2. (A) Loading efficiency and (B) loading amount of Ser-loaded SLNs. Results are expressed as the means ± SD of three independent experiments (N = 3).

다. 이는 지용성 유화제는 유중수형(W/O) 에멀젼에서 유상 내 수상의 계면을 안정화시키나, 친수성 유화제는 수중유형(O/W) 에멀젼에서 수상 내 유상의 계면을 안정화시키므로 친수성 유화제가 입자 사이즈와 제타전위에 크게 영향을 미치는 것으로 사료된다. Poloxamer 407의 친수성-친유성 밸런스(hydrophile-lipophile balance, HLB)는 22이고 poloxamer 188의 HLB는 29이므로, F3, F4가 F1, F2 보다 더 작은 입자가 제조되었다고 사료된다[11]. 제타전위의 경우 입자 사이즈가 작아질수록 입자의 표면적이 높아져 더 많은 음전하가 입자 표면에 노출되기 때문으로 사료된다[10].

3.2. SLNs 내 Ser의 봉입율 측정 결과

친수성 약물인 Ser의 봉입을 증대시키기 위해 이중 에멀젼 가온용융유화법으로 SLNs을 제조하였다. Ser의 봉입율 및 봉입효율을 측정한 결과 평균 봉입효율은 45.92, 55.05, 47.62, 57.33%이고, 평균 봉입율은 5.43, 6.44, 5.62, 6.68%가 나왔다(Figure 2). Poloxamer 188과 Span 40을 사용한 SLN 제형이 poloxamer 407과 Span 20을 사용한 제형보다 봉입율이 높은 것으로 나타났다. 또한 봉입율 차이의 정도는 친수성 유화제 보다 지용성 유화제가 더 크게 나타났다. 이는 지용성 유화제가 유중수형(W/O) 에멀젼에서 유상 내 약물이 분자적으로 분산되어 있는 수상의 계면을 안정화시키므로, SLN의 약물 봉입율에 크게 영향을 미치는 것으로 사료된다[11].

3.3. *In Vitro* 세포독성 평가 결과

Ser 봉입 SLNs 제형에 대한 피부 섬유아세포(CCD 986sk)의 세포생존율을 평가하였고, F1, F2, F3, F4 순으로 70.82, 76.99, 73.46, 83.47%이었다(Figure 3). 식품의약품안전처의 화장품 독성시험 동물대체시험법 가이드라인 해석에 따라 본 SLNs 제형은 모두 피부비자극성 물질임을 확인하였다.

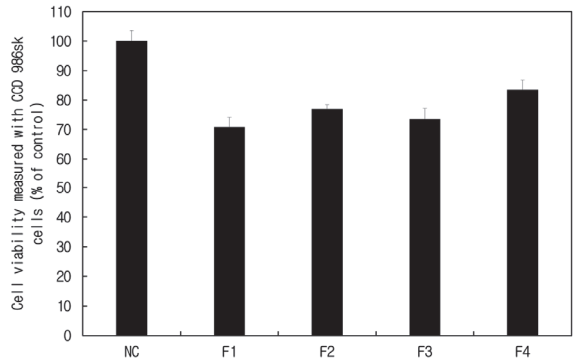

Figure 3. Viability of CCD 986sk cells treated with SLNs formulations. Cell viability was measured using MTT assay. The values greater than 50% indicate that test materials are nonirritant to the skin. Results are expressed as the means ± SD of three independent experiments (N = 3). NC: PBS.

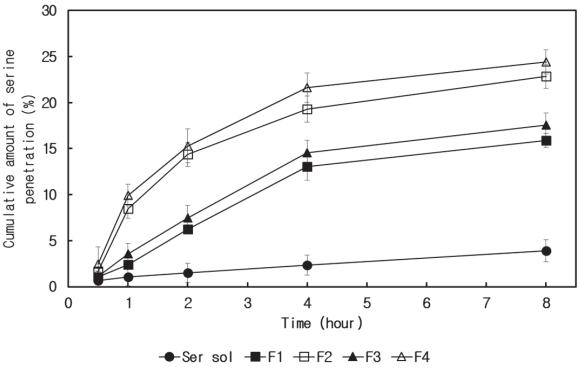

Figure 4. Cumulative penetration profiles for Ser from SLNs into SkinEthic™ RHE tissue. Results are expressed as the means ± SD of three independent experiments (N = 3).

3.4. SkinEthic™ RHE 조직을 사용한 *In Vitro* 피부 투과 결과

In vitro 피부 투과 실험은 0.5 cm^2의 insert에 배양된 SkinEthic™ RHE 피부 조직을 사용하여 8 h 동안 Ser 봉입 SLNs과 대조군인 Ser 수용액의 피부 투과율을 측정하였다 (Figure 4). 8 h 후 Ser 봉입 SLNs의 평균 피부 투과율은 15.88 ~ 24.43%로 3.91%의 피부 투과율을 보인 Ser 용액에 비해 약 4.1 ~ 6.2 배 개선되었음을 확인하였다. 지용성 유화제의 경우 Span 20을 사용한 SLN 제형 보다 Span 40을 사용한 SLNs 제형의 Ser 피부 투과율이 높은 것으로 나타났다. 이는 Span 40의 HLB는 6.7이고 Span 20의 HLB는 8.6으로 지용성이 높은 SLNs 제형일수록 피부 친화도가 높기 때문으로 사료된다[10,11]. 친수성 유화제의 경우 상대적으로

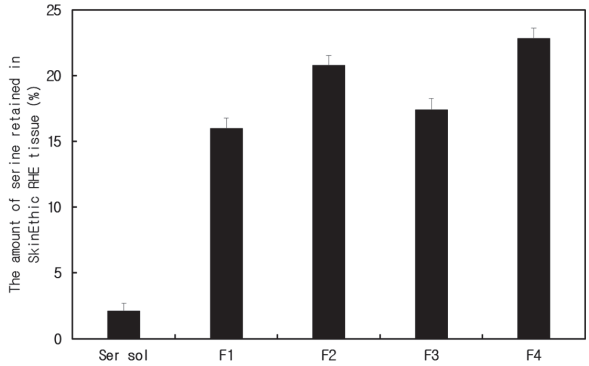

Figure 5. Results for Ser retention from Ser-loaded SLNs in SkinEthic™ RHE tissue after penetration studies. Results are expressed as means ± SD of three independent experiments (N = 3).

친수성이 높은 poloxamer 188을 사용한 SLNs 제형이 Ser 피부 투과율이 높게 나타났는데, 이는 입자 사이즈 작을수록 피부 투과율이 높아지기 때문으로 사료된다[11]. Ser 봉입 SLNs의 Ser 피부 투과율은 친수성 유화제의 영향 보다 지용성 유화제의 영향에 더 높이 지배를 받는 것으로 나타났다. 이는 입자 사이즈에 대한 피부 투과 효과보다 피부 친화성에 대한 효과가 더 높기 때문으로 사료된다.

3.5. SkinEthic™ RHE 조직을 사용한 *In Vitro* 피부 침적 결과

투과 실험이 종료된 후 SkinEthic™ RHE 피부 조직 내 Ser의 함량을 정량하였다(Figure 5). Ser 봉입 SLN의 Ser 피부 침적율은 15.99 ~ 22.85%로 2.11%인 Ser 용액 보다 약 7.6 ~ 10.8 배 개선되었음을 확인하였다. 이는 SLNs의 지질 성질이 피부 각질층 내 세포간 지질과 상호작용을 하여, SLN이 효율적으로 세포간 지질 내로 들어갈 수 있다고 사료된다[11]. 이를 통해 세포간 지질이 약물의 저장소가 될 수 있어 약물의 서방출을 유도할 수 있을 것으로 사료된다.

4. 결 론

본 연구에서는 피부 내 천연보습인자인 Ser의 피부 투과율을 개선시키기 위해 Ser을 SLNs에 봉입하고 피부 투과율을 평가하였다.

Ser은 이중 에멀젼 가온용융유화법으로 SLNs에 효과적으로 봉입할 수 있었으며, 평균 입자 크기 및 다분산 지수로 판단할 때 경피전달체로 적합하였다. 또한 제타 전위

값은 입자의 물리적 안정성을 확보하기에 적절하였다. SkinEthic™ RHE 피부 조직을 사용한 피부 투과 및 침적 시험에서 Ser을 봉입한 SLNs 제형이 대조군인 Ser 용액보다 약 4.1 ~ 6.2 배 피부 투과율이 개선되었다. 따라서, 본 연구에서 제조 된 stearic acid 기반 고형지질나노입자는 Ser의 피부 투과율을 개선하기에 충분한 결과를 보여 주었고, 이러한 결과는 보습물질인 Ser을 화장품에 적용하는데 유용한 자료로 활용될 수 있다.

References

1. S. H. Lee, S. K. Jeong, and S. K. Ahn, An update of the defensive barrier function of skin, *Yonsei. Med. J.*, **47**(3), 293 (2006).
2. P. Garidel, B. Fölting, I., Schaller, and A. Kerth, The microstructure of the stratum corneum lipid barrier: mid-infrared spectroscopic studies of hydrated ceramide: palmitic acid: cholesterol model systems, *Biophys. Chem.*, **150**(1-3), 144 (2010).
3. Y. Werner, and M. Lindberg, Transepidermal water loss in dry and clinically normal skin in patients with atopic dermatitis, *Acta Derm. Venereol.*, **65**(2), 102 (1985).
4. J. Fowler, Understanding the role of natural moisturizing factor in skin hydration, *Pract. Dermatol.*, **9**, 36 (2012).
5. D. R. Hoffman, L. M. Kroll, A. Basehoar, B. Reece, C. T. Cunningham, and D. W. Koenig, Immediate and extended effects of sodium lauryl sulphate exposure on stratum corneum natural moisturizing factor, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **36**(1), 93 (2014).
6. R. S. Teixeira, T. F. Cova, S. M. Silva, R. Oliveira, M. L. C. do Vale, E. F. Marques, A.C.C.P. Alberto, and F. J. Veiga, Novel serine-based gemini surfactants as chemical permeation enhancers of local anesthetics: a comprehensive study on structure–activity relationships, molecular dynamics and dermal delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **93**, 205 (2015).
7. J. S. Lucks, R. H. Muller, and B. Konig, Solid lipid nanoparticles (SLN)-an alternative parenteral drug carrier system, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **38**(33), 149 (1992).
8. C. Lotte, C. Patouillet, M. Zanini, A. Messager, and R. Roguet, Permeation and skin absorption: reproducibility of various industrial reconstructed human skin models, *Skin Pharmacol. Physiol.*, **15**(Suppl. 1), 18 (2002).
9. D. Monti, P. Chetoni, S. Burgalassi, S. Tampucci, M. Centini, and C. Anselmi, 4-Methylbenzylidene camphor microspheres: reconstituted epidermis (Skinethic®) permeation and distribution, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **37**(3), 298(2015).
10. Ü. Gönüllü, M. Üner, G, Yener, EF. Karaman, and Z. Aydoğmuş, Formulation and characterization of solid lipid nanoparticles, nanostructured lipid carriers and nanoemulsion of lornoxicam for transdermal delivery, *Acta Pharm.*, **65**(1), 1 (2015).
11. K. Mitri, R. Shegokar, S. Gohla, C. Anselmi, and RH. Müller, Lipid nanocarriers for dermal delivery of lutein: preparation, characterization, stability and performance, *Int. J. Pharm.*, **414**(1–2), 267 (2011).
12. J. Carmichael, W. G. DeGraff, A. F. Gazdar, J. D. Minna. and J. B. Mitchell, Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing, *Cancer Res.,* **47**, 936 (1987).
13. H. Kim, J. Ro, S. Barua, D. S. Hwang, S. J. Na, H. S. Lee, J. H. Jeong, S. Woo, H. Kim, B. Hong, G. Yun, J. H. Kim, Y. H. Yoon, M. G. Park, J. Kim, U. D. Sohn, and J. Lee, Combined skin moisturization of liposomal serine incorporated in hydrogels prepared with Carbopol ETD 2020, Rhesperse RM 100 and hyaluronic acid, *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, **19**(6), 543 (2015).
14. S. Yeo, D. Kim, M. Park, H. R. Woo, J. M. Yun, and J. L, Improved transport of adenosine incorporated in lipid nanoparticles across reconstructed human epidermis, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **41**(10), 969 (2020).