

플라즈마-초음파 자극에 의한 화장품의 피부 침투 증진 연구

황윤호 · 조혜연 · 박유진 · 장휘진 · 박상효 · 이재홍*

연세대학교 의공학과

Study for Enhanced Skin Penetration of Cosmetics by Plasma-Sono Stimuli

Yoonho Hwang, Hyeyoun Cho, Yujin Park, Hwijin Jang, Sanghyo Park and Jaehong Key*

Department of Biomedical Engineering, Yonsei University

(Manuscript received 9 August 2023 ; revised 17 August 2023 ; accepted 18 August 2023)

Abstract: The demand for skincare has increased due to the end of the COVID-19 pandemic, leading to a focus on skincare devices and technologies designed to improve the delivery of cosmetics. Among these technologies, skincare medical devices that utilize plasma therapy (Plasma) and sonophoresis (Sono) are commonly used in dermatology clinics. However, there is still a lack of quantitative analysis for transdermal absorption effects of Plasma and Sono skincare medical devices. In this study, we quantified enhanced transdermal absorption effects of Plasma and Sono devices through in-silico and ex-vivo studies. The Sono treatment demonstrated an increased transdermal absorption effect, showing a 10~13% difference in penetration compared to the control group in the in-silico experiment, and 159% and 184% increase in the ex-vivo experiment. The Plasma treatment revealed increased transdermal absorption effects, with a 1.0~2.5% penetration difference in the in-silico experiment, and a 124% increase in the ex-vivo experiment compared to the control group. We also observed a synergistic effect from the combined treatment of Plasma and Sono, as indicated by the highest increases of 197% and 242% in penetration. Furthermore, we have determined the optimal device settings and treatment conditions for Plasma-Sono skincare medical devices. Notably, higher on/off durations (Intensity levels) and longer Sono treatments resulted in greater transdermal absorption effects.

Key words: Cold plasma, Sonophoresis, Skin care medical device, Transdermal absorption, Cosmetics penetration, Skin permeability

1. 서 론

세계 미용 시장은 인구의 고령화, 여성 경제력 향상, 남성 수요층의 확대 등 다양한 이유로 빠르게 성장하고 있다[1]. 특히, 코로나 종식에 따른 마스크 의무 해제와 함께 피부미용에 대한 수요가 높아지고 화장품 시장 역시 빠르게 성장

하며 미백, 주름 개선, 피부 재생 등 특정 기능이 강화된 다양한 기능성 화장품들이 계속해서 출시되고 있다[2]. 기능성 화장품의 효과적인 효능을 위해서는 화장품이 피부 깊숙이 전달되어야 한다.

피부는 표피, 진피, 피하지방의 세 층으로 구성되어 있다. 표피의 가장 바깥쪽의 각질층(Stratum corneum)은 소수성, 불용성 섬유상의 단백질인 케라틴(Keratin)으로 구성된 10~20 μm 두께의 피부장벽이다[3]. 각질층을 이루는 각질 세포는 세라마이드(Ceramide), 자유지방산(Free fatty acid), 콜레스테롤(Cholesterol)이 포함되어 있는 세포 간지질로 인해 체내의 수분 손실을 방지하고, 대부분의 외부 물질 출입을 막아 인체를 보호한다[4].

이러한 각질층의 소수성 피부장벽 기능으로 친수성 화장

*Corresponding Author : Jaehong Key

Department of Biomedical Engineering, Yonsei University,
1 Yonseidaegil, Wonju, Gangwon-do, 220-710, South Korea
Tel: +82-33-760-2587

E-mail: jkey@yonsei.ac.kr

본 연구는 과학기술정보통신부 및 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2022R1F1A1069516, 2022RIS-005).

품이 경피에 쉽게 흡수되지 않는다[5-7]. 친수성 화장품의 경피 흡수를 증가시키기 위해 고전압을 이용하는 전기 영동법(Electrophoresis), 전위차에 의한 인력으로 피부 투과를 증가시키는 이온 영동법(Iontophoresis), 플라즈마 기체와 피부 세포의 생리학적 반응을 이용한 플라즈마 치료법(Plasma therapy), 초음파를 이용한 초음파 영동법(Sonophoresis)과 같은 다양한 방법들이 활용되고 있다. 그러나 전기 영동법의 고전압에 의한 비가역적 피부 손상 문제와 이온 영동법의 전하를 가진 화장품만 적용이 가능한 한계로 인해 플라즈마 치료법과 초음파 영동법이 다른 방법들에 비해 일반적으로 피부과 클리닉에서 사용되고 있다[8-10].

플라즈마 치료법(Plasma therapy, Plasma)은 40℃ 이하의 저온 플라즈마 기체를 사용하는 방법으로 고전압, 고주파의 전류가 기기의 유전체 장벽에서 방전될 때(Dielectric Barrier Discharge, DBD) 발생하는 플라즈마 기체와 피부 세포 사이의 생리학적 반응을 이용하는 기술이다[11,12]. 플라즈마 핸드피스(Handpiece)에 의해 생성된 활성산소종(Reactive Oxygen Species, ROS)들이 각질 세포막의 인지질 이중층에 있는 지질을 산화시킨다. 이후 산화된 지질층이 연속해서 활성기체들과 반응하여 과산화 반응이 일어나고 분자구조의 변형으로 일시적인 기공을 각질층에 생성한다[13]. 또한 피부 세포간 결합 단백질인 데스모솜(Desmosome)을 일시적으로 분리하여, 각질층에 생성된 기공과 함께 채널을 형성해 경피 흡수를 증가시킨다[14,15].

초음파 영동법(Sonophoresis, Sono)은 다양한 원리 기반의 경피 흡수 기술이지만 초음파에 의한 공동현상(Cavitation)이 주된 메커니즘으로 알려져 있다[16]. 초음파 핸드 피스와 접촉한 화장품 내부에 순간적으로 많은 기포가 생성되면서 일정한 흐름을 갖게 된다. 이러한 흐름에 의해 전단 응력이 발생하게 되고, 피부 세포 사이의 간극이 일시적으로 확장되어 피부 장벽 사이로 화장품이 흡수되면서 진피층까지 도달하게 된다[17-20]. 이와 함께 공동현상으로 생성된 화장품 입자를 내재한 기포가 각질층과 부딪혀 깨지면서 강력한 충격파가 발생하고, 이로 인해 화장품이 더욱 효과적으로 흡수되는 효과가 발생한다[21].

하지만 플라즈마 및 초음파 피부미용 의료기기의 화장품 경피 흡수 증가효과에 대한 정량적인 분석이 아직 부족한

상황이다. 또한 피부과 클리닉에서 사용하는 플라즈마 및 초음파 피부미용 의료기기의 설정 및 처리 조건에서 향상된 경피 흡수 증가효과를 나타내는지는 아직 보고되지 않았다.

따라서 본 연구는 In-silico의 3D 프린팅 피부모사팬텀을 이용한 화장품 투과율 측정 실험과 Ex-vivo의 돼지 피부모델을 이용한 Rhodamine-B의 투과율 측정 실험을 통해 플라즈마 및 초음파 피부미용 의료기기의 경피 흡수 증가효과를 정량적으로 확인했다. 또한, 기기의 작동 on/off 지속시간 설정에 따른 투과율 비교와 플라즈마와 초음파 처리 사이의 시너지 효과 여부를 파악하여, 어느 설정 및 처리 조건에서 더 높은 경피 흡수 증가효과를 나타내는지 평가했다.

II. 연구 방법

1. 플라즈마 및 초음파 피부미용 의료기기

플라즈마 및 초음파 피부미용 의료기기는 플라즈마프로(Plasmapro, 대양의료기(주), KOR)를 사용했으며, 기기는 플라즈마 핸드피스와 초음파 핸드피스로 구성되어 있다. 전기적인 출력과 별개로 각 핸드피스의 on/off 작동 지속시간(duration)을 조절하는 지속강도(Intensity level)을 설정할 수 있다. 플라즈마, 초음파 핸드피스의 출력 사양은 표 1과 같다.

2. 3D프린팅 피부모사팬텀 제작

직경이 70.60 mm, 높이가 8.50 mm인 원통형 본체를 3D 프린터를 이용하여 제작했으며, 높이 6.00 mm, 최상층에서부터 직경이 15.00 mm에서 10.35 mm로 좁아지는 공간을 내부에 설계했다. 또한 직경 2.00 mm의 내부 공간으로부터 외부의 용매 이동관을 만들어 수용액의 주입, 추출을 용이하게 할 수 있도록 3D 모델링 소프트웨어와 프린터(3D printer, 3D System, USA)를 이용해 제작했다.

3. 흡광도 분석을 위한 화장품 특성 분석

화장품(L-ascorbic 25% topical serum, Censil, KOR)의 흡광도(Absorbance) 분석을 위해 100 ml의 화장품을 증류수:에탄올(1:1)의 수용액(Deionized water-Ethanol)에 녹인 혼합 수용액의 흡광도 스펙트럼을 흡광도 분석기(Synergy

표 1. 플라즈마, 초음파 피부미용 의료기기(Plasmapro)의 출력 사양

Table 1. Output specification of Plasma-Sono skin care medical device(Plasmapro)

Output specification					
Type	Output	Frequency [Hz]	Intensity level [on ms / off ms]		
			Level1	Level2	Level3
Plasma	10.5 [V _{PP}]	100k	25 / 75	50 / 50	Continuous
Sono	0.2 [W/m ²]	1M	65 / 35	75 / 25	85 / 15

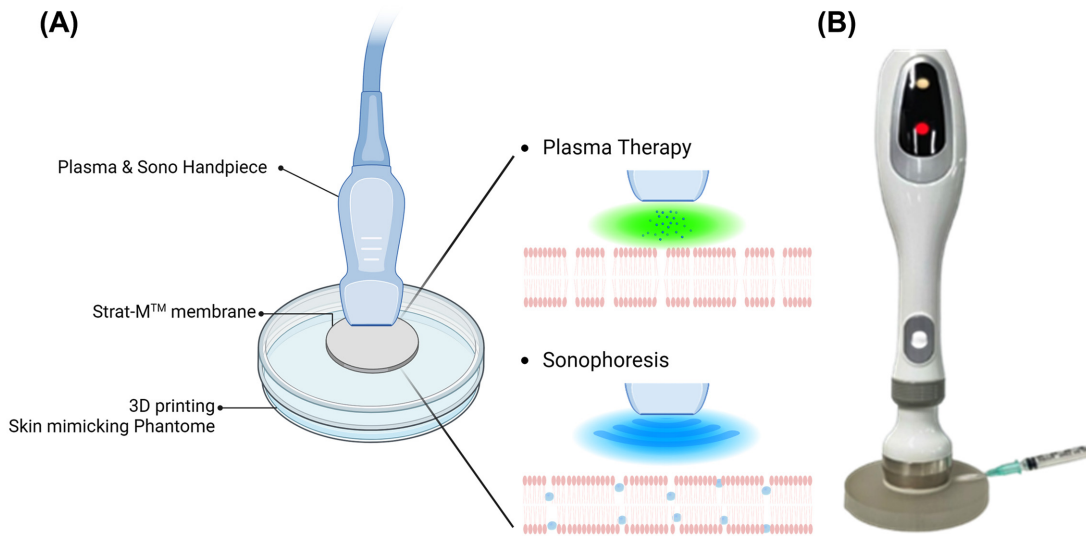


그림 1. 3D 프린팅 피부모사팬텀을 이용한 화장품 투과율 측정 실험. (A) 실험과정 모식도, (B) 실험과정에서 촬영된 사진
 Fig. 1. Experiment for measuring the penetration of cosmetics using a 3D printing skin mimicking phantom (A) Schematic diagram, (B) Real image of the experiment

HTX multimode reader, BioTek Instruments, USA)를 통해 측정했다. 그리고 샘플과 증류수-에탄올 수용액의 흡광도의 차이가 가장 큰 파장으로 화장품 특정 파장을 선정 후 화장품 농도에 따른 표준곡선을 제작했다[22].

4. 3D 프린팅 피부모사팬텀을 이용한 화장품의 인공막 투과율 측정 실험

사람 피부와 유사한 모양과 구조를 갖는 인조 피부 모델인 Strat-M™ 인공막(Merck KGaA, Darmstadt, Germany)을 사용하여 실험을 진행했다[23,24]. 증류수와 에탄올을 1:1 비율로 혼합한 수용액 1 ml을 팬텀 내부공간에 채운 후, 인공막을 양면 테이프를 팬텀에 고정했다. 플라즈마를 인공막에 전처리한 후, 100 μ l의化妆품을 인공막 위에 도포하고 초음파를 처리했다. 모든 처리가 끝난 팬텀 내부 수용액을 추출 후, 선정한 파장으로 흡광도를 분석하여 화장품의 인공막 투과율을 측정했다. 투과율(Penetration) 산출 방법은 식 (1)과 같다.

$$\text{Penetration(\%)} = \frac{\text{Absorbance of cosmetics in the extract}}{\text{Absorbance of initial applied cosmetics (100 } \mu\text{l)}} \times 100 \quad (1)$$

(1) 플라즈마, 초음파 핸드피스 지속강도에 따른 화장품 투과율 측정 실험

플라즈마와 초음파 핸드피스의 on/off 지속시간을 조절하는 지속강도 설정별(Level1, Level2, Level3) 화장품의 인공막 투과율을 측정했다. 플라즈마의 경우 각 지속강도에서 10분

동안 전처리 후,化妆품을 도포한 뒤 팬텀 내부 수용액을 추출하여 화장품의 투과율을 측정했다. 초음파의 경우 화장품 도포 후 각 지속강도 처리 후의 내부 수용액을 추출하여 화장품 투과율을 측정했다.

(2) 시간에 따른 플라즈마, 초음파 처리 조건별 화장품 투과율 측정 실험

플라즈마, 초음파 핸드피스의 지속강도를 Level3으로 고정했으며, 플라즈마의 전처리 시간을 10분으로 고정하여 실험을 진행했다. 초음파가 처리된 조건들은(초음파 단독 처리, 플라즈마 전처리 후 초음파 처리) 화장품 도포 후 초음파를 5, 10, 15분 처리한 뒤, 각각의 내부 수용액을 추출하여 화장품 투과율을 측정했다.

5. 돼지 피부모델에서의 Rhodamine-B 투과율 측정 실험

돼지 피부 각질층의 두께는 10~30 μ m이며 표피층과 진피층의 두께는 각각 30~140 μ m, 3.13~3.60 mm로 사람 피부와 매우 유사한 구조를 가져 사람 피부를 대체하기에 적합하다[25-28]. 돼지 피부는 현지 정육점에서 제공받았으며 연구 목적을 위해 도살한 돼지로부터 얻은 피부가 아니기 때문에 동물실험윤리위원회의 승인이 필요하지 않았다. 이후 돼지 피부를 30 × 30 mm(가로 × 세로) 크기의 모델로 제작하여, -20°C에서 냉동 보관하였다.

1시간 해동한 돼지 피부모델을 0.1 M NaCl(Samchun, KOR) 수용액에 10분간 처리하였다. 이후 플라즈마를 전처리한 뒤 0.1 mg/ml의 Rhodamine-B(Sigma Aldrich, USA) 용액을 피부 위에 도포한 후, 초음파를 처리했다. In-silico 실험

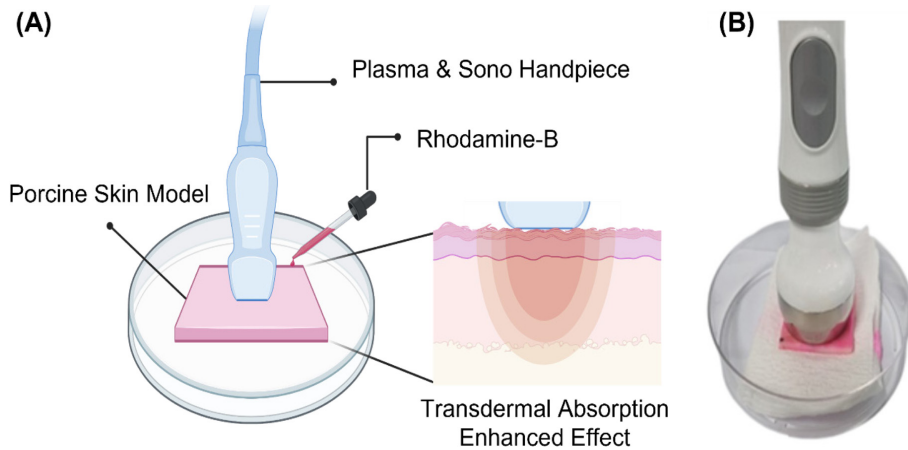


그림 2. 돼지 피부모델을 활용한 Rhodamine-B 투과율 측정 실험. (A) 실험과정의 모식도, (B) 실험과정에서 촬영된 사진
 Fig. 2. Experiment for measuring the penetration of Rhodamine-B using a porcine skin model: (A) Schematic diagram, (B) Real image of the experiment

험과 동일하게 플라즈마, 초음파 Level3로 지속강도를 고정하여 진행했다. 반면, 플라즈마 전처리 시간은 5분 초과 처리 시, 피부모델의 표피가 손상되어 5분으로 고정했다.

플라즈마 단독 처리, 초음파 단독 5, 10분 처리, 플라즈마 전처리 후 초음파 5분, 10분 처리 조건 각각의 Rhodamine-B의 형광강도(Intensity)를 형광 현미경(FOBI, Cellgentek, KOR)을 통해 촬영했다. 이미지 분석 프로그램(Neo image, Cellgentek, KOR)을 통해 각 피부모델의 평균 형광도(Mean intensity)를 분석했으며 이를 설정 영역(Configuration area)으로 나눈 통합밀도(Integrated density, I.D)를 이용해 Rhodamine-B의 돼지 피부 투과율을 계산했다. 통합밀도와 투과율(Penetration)의 산출 방법은 식 (2, 3)과 같다.

$$\text{Integrated density(I.D)} = \text{Mean intensity} \times \text{Configuration area} \quad (2)$$

$$\text{Penetration(\%)} = \frac{\text{Integrated density(I.D) of Control group}}{\text{Integrated density(I.D) of Treatment group}} \times 100 \quad (3)$$

6. 통계 분석

본 연구에서는 5회 반복 실험하여 데이터를 수집해 평균 ± 표준 편차로 표현하였고 one-way ANOVA test(SystatSoftware, Inc, Chicago, IL, USA)를 사용하여 비교하였다. 통계학적 유의수준은 *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001으로 설정하였다.

III. 연구 결과 및 고찰

1. 화장품 특성 분석 결과

흡광도 스펙트럼 측정 결과, 290 nm의 파장에서 화장품

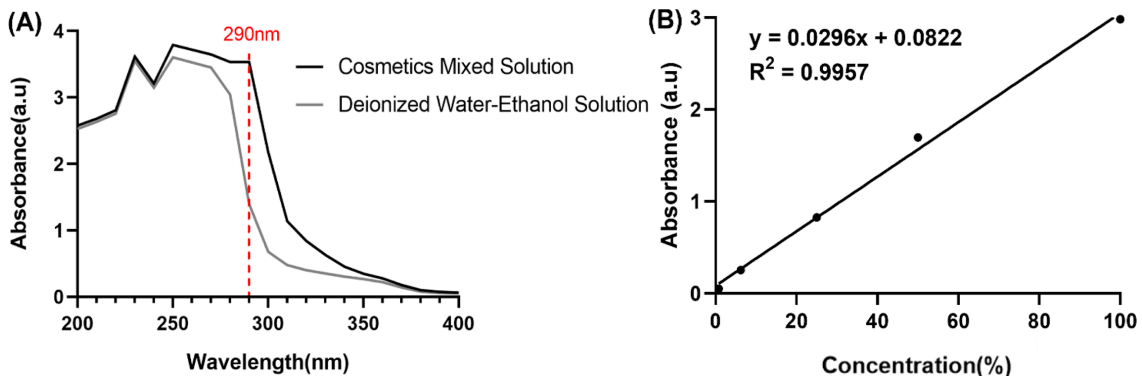


그림 3. 화장품 흡광도 분석을 위한 파라미터. (A) 화장품 혼합 수용액과 증류수-에탄올 수용액의 흡광도 스펙트럼, (B) 화장품 농도에 따른 흡광도 추세선

Fig. 3. Parameters for cosmetics' absorbance analysis (A) Spectrum of cosmetics mixed solution and deionized water-ethanol solution, (B) Standard curve of absorbance based on cosmetics concentration

혼합 수용액과 증류수-에탄올 수용액의 흡광도 차이가 가장 크게 나타났다(그림 3A). 이를 바탕으로 화장품 농도에 따른 흡광도의 표준곡선(Standard curve)을 계산하여 $y = 0.0296x + 0.0822(R^2 = 0.9957)$ 의 식을 구했다(그림 3B). 산출한 표준곡선을 이용하여 흡광도에 따른 화장품의 농도를 회귀 분석하였다.

2. 3D 프린팅 피부모사패턴을 이용한 화장품의 Strat-M™ membrane 투과율 측정 실험

그림 1A, B는 3D 프린팅 피부모사패턴을 이용한 화장품의 인공막 투과율 측정 실험의 모식도와 실험과정을 촬영한 사진으로 이와 같이 실험을 진행하였다.

(1) 플라즈마, 초음파 핸드피스 지속강도에 따른 화장품 투과율 분석

그림 4는 플라즈마, 초음파 핸드피스의 작동 on/off 지속 시간을 조절하는 지속강도별 처리 10분에서 화장품의 인공막 투과율 측정 결과이다. 처리 10분 후의 결과에서 플라즈마의 경우, 지속강도가 증가함에 따라 1.1%에서 2.4%의 투과율 증가를 보이며 모든 지속강도 사이에서 유의미한 차이를 나타냈다(그림 4A). 초음파 처리 또한 지속강도가 증가함에 따라 10.8%에서 14.5%로 투과율이 증가하며 level1과 level3 사이 그리고 level2와 level3 사이에서 통계학적 유의미함을 보였다(그림 4B). 이를 통해, 핸드피스의 작동 on/off 지속시간이 길어질수록 화장품 투과율이 증가하는 것을 확인했다. 더불어, 핸드피스의 작동 on/off 지속시간 설정이 화장품 투과율에 영향을 미치는 설정 조건임을 확인할 수 있었다.

(2) 시간에 따른 플라즈마, 초음파 처리 조건별 투과율 분석
시간에 따른 각 처리 조건의 화장품 투과율을 측정 및 비교하기 위해 플라즈마, 초음파 핸드피스의 지속강도를 고정했다. 플라즈마와 초음파 핸드피스 모두 가장 높은 투과율을 보인 level3로 설정을 고정했으며 플라즈마 전처리 시간을 10분으로 통일했다. 그림 5는 각 처리 조건별 5, 10, 15분에서 화장품의 인공막 투과율을 측정된 결과다. 아무 처리하지 않은 대조군은 모든 시간대에서 큰 변화 없이 1% 이하의 투과율을 보였다. 플라즈마 단독 처리 경우, 시간에 따라 1.58%, 2.45%, 3.21%의 투과율을 나타내며 대조군과 1.0~2.5%의 유의미한 차이를 보였다. 초음파 단독 처리의 경우, 시간에 따라 12.8%, 14.2%, 14.3%의 투과율로 대조군과 10~13%의 유의차를 보였다. 마지막으로 플라즈마와 초음파를 순차적으로 처리한 복합 처리 조건의 경우, 시간에 따라 13.4%, 14.4%, 14.8%의 가장 높은 투과율을 보이며 대조군과 13% 이상의 유의차들을 나타냈지만, 초음파 단독 처리 조건 사이의 유의미한 차이는 확인할 수 없었다. 결론적으로, 모든 시간대에서 대조군과 플라즈마와 초음파 단독 처리 조건의 유의미한 투과율 차이를 통해 피부미용 의료기기의 경피 흡수 증가효과를 정량적으로 확인할 수 있었다.

그러나 초음파 처리 조건과 대조군의 투과율 차이에 비해 플라즈마의 효과는 차이가 크지 않았고, 복합 처리의 시너지 효과도 확인할 수 없었다. 플라즈마 기기에서 생성된 활성 기체(ROS)는 각질 세포막의 인지질 이중층 내에 존재하는 지질을 산화시켜 기공을 형성한다[13]. 이와 동시에, 데스모솜을 분리하고 기공과 상호 작용하는 채널을 형성하여 경피 흡수를 증가시키는 메커니즘을 유발한다[14,15]. 그러나 본 실험에서는 고분자(Polypropylene, Polyether-sulfone) 소재의

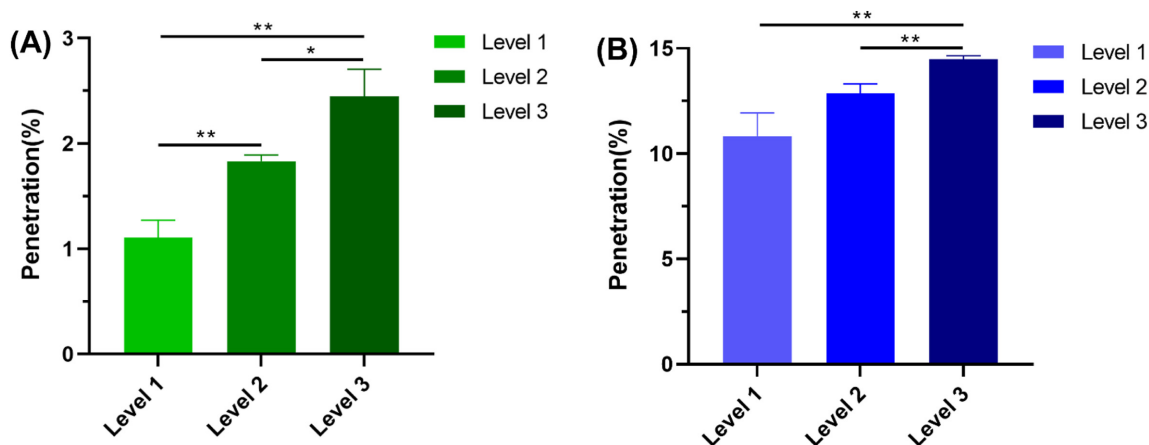


그림 4. 플라즈마, 초음파 핸드피스의 지속강도에 따른 화장품의 인공막 투과율. (A) 플라즈마 핸드피스의 지속강도에 따른 화장품 투과율, (B) 초음파 핸드피스의 지속강도에 따른 화장품 투과율(5회 반복 실험, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$)

Fig. 4. Penetration of cosmetics through the membrane with respect to the intensity levels of Plasma and Sono handpiece, (A) Penetration of cosmetics with respect to the intensity levels of Plasma handpiece, (B) Penetration of cosmetics with respect to the intensity levels of Sono handpiece($n=5$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$)

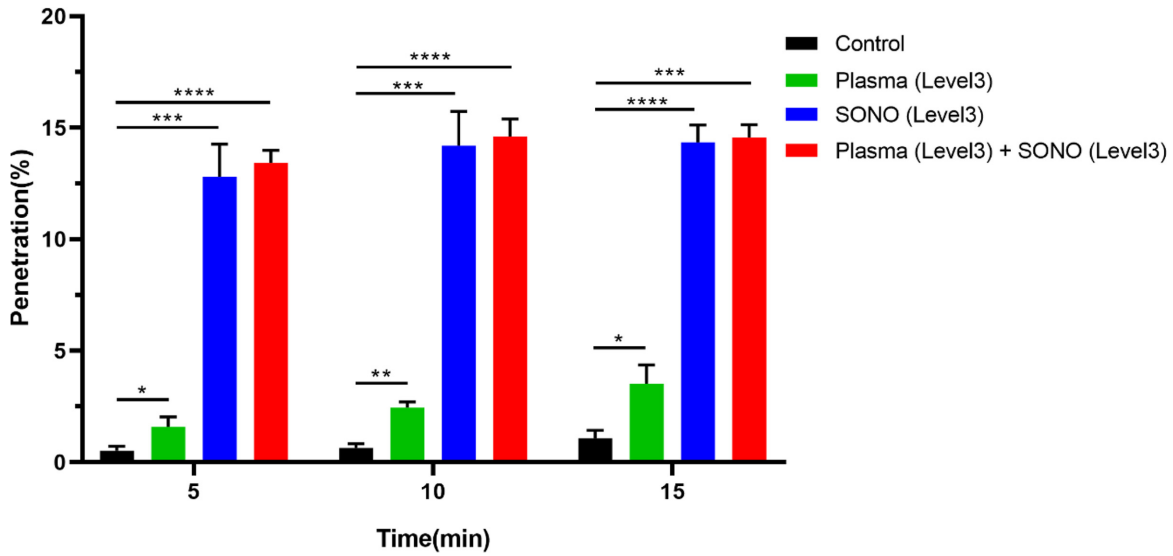


그림 5. 시간에 따른 처리 조건별 화장품의 인공막 투과율(5회 반복 실험, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001)
 Fig. 5. Penetration of cosmetic through membrane under different treatments over time(n=5, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001)

280

인공막을 사용하였기 때문에 이러한 메커니즘이 제한되었으며 플라즈마 처리의 명확한 효과를 입증하지 못하였다[29]. 따라서 ex-vivo의 돼지 피부 모델을 이용하여 플라즈마와 돼지 피부 사이의 생화학적 반응에 의한 경피 흡수 증가효과를 확인하고자 했다.

3. 돼지 피부 모델을 이용한 Rhodamine-B 투과율 분석

그림 2A, B는 돼지 피부 모델을 이용한 Rhodamine-B 투과율 측정 실험의 모식도와 실험과정을 촬영한 사진이다. In-silico 실험과 동일하게 지속강도를 level3로 플라즈마, 초음파 핸드피스의 설정을 고정한 반면, 5분 이상의 플라즈마 처리 시 돼지 피부 모델의 표피 손상이 발생하여 처리 시간을 5분으로 변경하였다.

돼지 피부 표피층과 진피층의 두께가 각각 30~140 μm, 3.13~3.60 mm라는 참고문헌 내용을 바탕으로 실험 피부모델의 표피층을 100 μm로 설정하였다[26-28]. 그림 6A는 처리 시간 및 처리 조건에 따른 Rhodamine-B의 돼지 피부 침투를 FOBI를 통해 촬영한 형광 이미지이며 설정한 표피층과 진피층을 이미지 처리 프로그램인 Image J를 통해서 나타내었다. 해당 이미지를 분석 프로그램인 Neo image를 통해 통합밀도를 분석하여 그림 6B와 같이 처리 시간 및 처리 조건에 따른 Rhodamine-B의 투과율을 측정하였다. 플라즈마 단독 처리의 조건의 경우, 대조군보다 표피층에서 Rhodamine-B 침투에 의한 높은 형광감도의 이미지를 보였고, 실제 투과율에서도 대조군 대비 124%의 투과율 증가를 보이며 유의미한 효과를 나타냈다. 초음파 단독 처리의 경우 이미지

에서 대조군보다 더 깊은 진피층까지의 Rhodamine-B의 침투에 의한 높은 형광감도를 보였고, 대조군 대비 159%, 184%의 투과율 증가를 통해 통계적인 유의미함을 나타냈다. 단독 처리 조건들 사이에서는 초음파 단독 처리가 플라즈마 단독 처리보다 표피층과 더불어 진피층 깊이까지 더 높은 형광감도를 보였으며, 30% 이상의 유의미한 투과율 차이를 확인했다. 플라즈마 전처리 후 초음파 처리의 복합 처리 조건은 플라즈마 처리의 표피 침투량 증가 효과와 초음파 처리의 진피까지 침투 깊이 증가 효과 모두 이미지를 통해 확인하였고, 실제 투과율에서도 모든 조건들과 통계적으로 유의미한 차이를 나타내며 각각 197%와 242%로 가장 큰 투과율을 확인할 수 있었다.

종합적으로, Ex-vivo 실험을 통해 in-silico 실험보다 더 높은 플라즈마 단독 처리의 표피층의 침투 증가에 의한 경피 흡수 효과를 파악할 수 있었다. 이를 통해 플라즈마 처리의 주된 메커니즘이 피부 세포와 기기로부터 발생한 ROS 사이의 생리학적 반응인 것을 확인할 수 있었다.

In-silico 실험 결과와 비슷한 통계학적으로 유의미한 수준의 초음파 단독 처리 결과를 통해 초음파 처리의 경피 흡수 증가효과를 재확인하며, 진피층까지 깊이 성분을 침투시키는 것을 확인할 수 있었다. 추가적으로 초음파 처리 시간의 증가에 따라 경피 흡수 효과가 증가한다는 것을 정량적으로 파악하였다. 또한 복합 처리 조건이 초음파 단독 처리 조건들에 비해 10% 이상의 유의미한 차이를 보이며 플라즈마 처리의 표피 침투량 증가 효과와 초음파 처리의 진피까지 침투 깊이 증가에 의한 시너지 효과를 확인할 수 있었다.

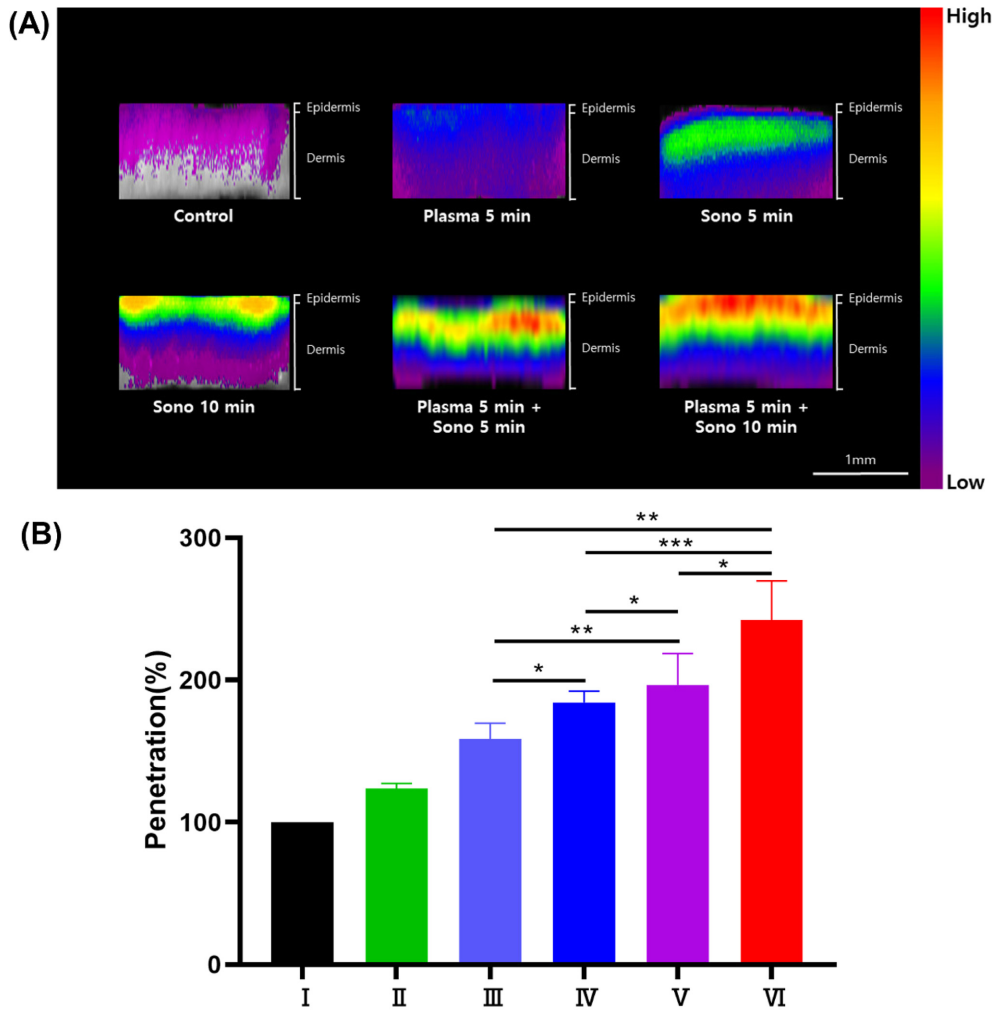


그림 6. 처리 시간 및 처리 조건별 Rhodamine-B 돼지 피부 투과율. (A) Rhodamine-B의 돼지 피부 침투 형광 이미지, (B) Rhodamine-B의 돼지 피부 투과율(I: Control, II: Plasma 5 min, III: Sono 5 min, IV: Sono 10 min, V: Plasma 5 min + Sono 5 min, VI: Plasma 5 min + Sono 10 min) (5회 반복 실험, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$)

Fig. 6. Porcine Skin Penetration of Rhodamine-B according to treatment duration and conditions: (A) Fluorescent images of Rhodamine-B permeability into porcine skin, (B) Penetration of Rhodamine-B through porcine skin(I: Control, II: Plasma 5 min, III: Sono 5 min, IV: Sono 10 min, V: Plasma 5 min + Sono 5 min, VI: Plasma 5 min + Sono 10 min) ($n=5$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$)

IV. 결 론

본 연구에서는 3D 프린팅 피부모사팬텀을 이용한 화장품 투과율과 돼지 피부모델을 이용한 Rhodamine-B 투과율 측정 실험을 통해 플라즈마, 초음파 피부미용 의료기기의 경피 흡수 증가효과를 정량적 분석하고 플라즈마와 초음파 처리 사이의 시너지 효과 여부를 파악하여, 어느 설정 및 처리 조건에서 더 높은 경피 흡수 증가효과를 나타내는지 평가했다.

플라즈마, 초음파 핸드피스의 지속강도에 따른 화장품 투과율 측정을 통해 플라즈마와 초음파 모두 기기의 지속강도 설정이 높아질수록 화장품의 투과율이 높아지는 것을 확인

할 수 있었다.

시간에 따른 처리 조건별 화장품 투과율 측정에서, 플라즈마 단독 처리의 경우 아무 처리하지 않은 대조군과 1.0~2.5%의 차이를 보였다. 초음파 단독 처리의 경우 대조군과 12.3~14.5%의 차이를 확인했다.

돼지 피부모델을 이용한 ex-vivo 실험에서는 in-silico보다 더 명확한 대조군 대비 124%의 플라즈마 단독 처리 조건의 Rhodamine-B 투과율을 확인할 수 있었다. 초음파 단독 처리 조건의 경우 대조군 대비 159%, 184%의 in-silico와 유사한 결과를 나타냈다. 플라즈마 전처리 후 초음파 처리의 복합처리 조건에서는 197%, 242%의 가장 높은 투과율을 보

였다.

결론적으로 대조군과 유의미한 차이를 보인 플라즈마와 초음파 단독 처리의 투과율을 통해 플라즈마, 초음파 피부 미용 의료기기의 경피 흡수 증가효과를 정량적으로 확인할 수 있었다. 또한 단독 처리 조건들과 유의미한 차이를 보인 복합 처리의 투과율을 통하여 플라즈마와 초음파의 경피 흡수 증가에 대한 시너지 효과를 확인할 수 있었다. 더불어 단독 처리보다는 복합처리일 때, 기기의 on/off 작동 지속시간이 길 때, 초음파의 처리 시간이 지속될 때 경피 흡수가 증가한다는 사실을 파악할 수 있었다. 이를 바탕으로 본 연구는 플라즈마와 초음파를 이용한 피부미용 의료기기 외의 레이저와 마이크로니들 등을 이용한 다양한 화장품 전달 기술의 경피 흡수 효과 평가에 응용될 수 있으며, 피부미용뿐만 아니라 상처치료 및 약물전달 등의 다양한 분야에서도 활용이 가능할 것으로 기대된다.

한편, 본 연구에서는 돼지피부를 이용한 실험에서 플라즈마와 ROS 사이의 생리학적 반응을 직접적으로 입증하지 못하였기 때문에 추가적인 연구가 필요하다. 또한, 촬영된 형광 이미지와 사용한 분석 프로그램(Neo image)을 통해서는 정확한 피부층들을 구별하는 것이 어려웠고, 투과율 계산 시 사용된 통합밀도(integrated Density) 값이 이미지 설정영역(configuration area)에 영향을 받기 때문에 각 피부층에서 구분된 투과율을 분석에 한계가 있었다. 이를 해결하기 위해, 피부모델의 각질층 및 표피층 그리고 진피층을 구별할 수 있는 추가적인 연구가 필요하다. 더불어 향후 연구에 다양한 분자량의 형광염료를 통한 분자량별 투과율과 여러 제형에 따른 화장품의 투과율을 분석과 함께 플라즈마 초음파 피부 미용 의료기기의 경피 흡수 효과를 최대로 발생시키는 더 많은 설정 및 조건을 파악하여 실제 피부과에서 적용할 수 있는 경피 흡수 최적화 프로토콜을 개발할 예정이다.

References

- [1] Salvioni L, Morelli L, Ochoa E, Labra M, Fiandra I, Palugan L, Prosperi D, Colombo M. The emerging role of nanotechnology in skincare. *Advances in colloid and interface science*. 2021;293:102437.
- [2] Nguyen J, Masub N, Jagdeo J. Bioactive ingredients in Korean cosmeceuticals: Trends and research evidence. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2020;19(7):1555-1569.
- [3] Trommer H, Neubert R. Overcoming the stratum corneum: The modulation of skin penetration: A review. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2006;19(2):106-21.
- [4] Xueqing H, Huaming H. A review of cosmetic skin delivery. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2021;20(7):2020-2030.
- [5] Chung JY, Han HS. The recent trend of percutaneous absorption used in cosmetics. *Kor J Aesthet Cosmetol*. 2014;12(5):597-605.
- [6] Eyerich S, Eyerich K, Traidl-Hoffmann C, Biedermann T. Cutaneous barriers and skin immunity: differentiating a connected network. *Trends Immunol*. 2018;39(4):315-27.
- [7] Schoellhammer CM, Blankschtein D, Langer R. Skin permeabilization for transdermal drug delivery: recent advances and future prospects. *Expert opinion on drug delivery*. 2014;11(3):393-407.
- [8] Wen X, Xin Y, Hamblin M. Applications of cold atmospheric plasma for transdermal drug delivery: a review. *Drug Delivery and Translational Research*. 2021;11:741-747.
- [9] Cho W. Transdermal delivery system of effective ingredients for cosmeceuticals. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*. 2011;37(2):97-119.
- [10] Banga K, Bose S, Ghosh T. Iontophoresis and electroporation: comparisons and contrasts. *International journal of pharmaceuticals*. 1999;179(1):1-19.
- [11] Angela P, Anke S, Abraham L, Klaus-Dieter W, Kristian W, Annemie B, Sander B. ROS from Physical Plasmas: Redox Chemistry for Biomedical Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019:9062098.
- [12] Han I. Plasma Devices for Cosmetic and Aesthetic Treatment. *Plasma Biosciences and Medicine*. 2023;229-256.
- [13] Yoshiyuki S, Ryugo T, Ryuma Y, Kota Y, Hirofumi T. Reduction in lateral lipid mobility of lipid bilayer membrane by atmospheric pressure plasma irradiation. *Japanese Journal of Applied Physics*. 2016;55(3S2):03DF05.
- [14] Gelker M, Müller-Goymann C, Viöl W. Permeabilization of human stratum corneum and full-thickness skin samples by a direct dielectric barrier discharge. *Clin Plasma Medicine*. 2018;9:34-40.
- [15] Schmidt A, Liebelt G, Striesow J, Freund E, Woedtke T, Wende K, Bekeusch S. The molecular and physiological consequences of cold plasma treatment in murine skin and its barrier function. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020;161:32-49.
- [16] Park DH, Park HJ, Seo JB, Lee SH. Sonophoresis in transdermal drug deliveries, *Ultrasonics*, 2014;54:56-65.
- [17] Koznarska-Buczowska A, Chlicka K, Rusztowicz M, Adamczyk E. The effectiveness of green tea and sonophoresis on oily skin. a case report. *Medical Science Pulse*. 2022;16(1):38-42.
- [18] Park DH, Won JH, Lee GJ, Lee YH, Kim CW, Seo JB. Sonophoresis with ultrasound-responsive liquid-core nuclei for transdermal drug delivery. *Skin Research and Technology*. 2022;28(2):291-298.
- [19] Park JH, Lee HW, Lim GS, Kim NY, Kim DW, Kim YC. Enhanced transdermal drug delivery by sonophoresis and simultaneous application of sonophoresis and iontophoresis. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20:1-7.
- [20] Song S, Kim H. Effect of Manufacturing and Absorption Promotion of Lidocaine Hydrogel Using Ultrasonic Waves during Cosmetic Procedures. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*. 2021;19(4): 619-626.
- [21] Tezel A, Mitragotri S. Interactions of inertial cavitation bubbles with stratum corneum lipid bilayers during low-frequency sonophoresis. *Biophysical journal*. 2003;85(6):3502-3512.
- [22] Kim GH, Jang HJ, Choi SM, Park SH, Kim WC. Skin-Mimicking Phantom for Measurement of Cosmetic Transdermal Absorption and Temperature Changes by Sonophoresis. *Journal of Biomedical Engineering Research*, 2022;43(4):271-279.
- [23] Haq A, Dorrani M, Goodyear B, Joshi V, Michniak-Kohn B. Membrane properties for permeability testing: Skin versus

- synthetic membranes. *International journal of pharmaceutics*. 2018;539(1-2):58-64.
- [24] Kaur L, Singh K, Paul S, Singh S, Singh S, Jain S. A mechanistic study to determine the structural similarities between artificial membrane Strat-M™ and biological membranes and its application to carry out skin permeation study of amphotericin B nanoformulations. *AAPS pharmscitech*. 2018;19: 1606-1624.
- [25] Schmook F, Meingassner J, Billich A. Comparison of human skin or epidermis models with human and animal skin in in-vitro percutaneous absorption. *International journal of pharmaceutics*, 2001;215(1-2):51-56
- [26] Shin H, Ahn H. Adhesive Friction, and Deformation Behaviors of Pig Skin under Various Exposure Times to Air. *Tribology and Lubricants*. 2014;30:36-45.
- [27] Carrer D, Vermehren C, Bagatolli L. Pig skin structure and transdermal delivery of liposomes: a two photon microscopy study. *Journal of controlled release*. 2008;132(1):12-20.
- [28] Summerfield A, Meurens F, Ricklin ME. The immunology of the porcine skin and its value as a model for human skin. *Molecular immunology*. 2015;66(1):14-21.
- [29] Neupan R, Boddu S, Renukuntla J, Babu R, Tiwari A. Alternatives to biological skin in permeation studies: Current trends and possibilities. *Pharmaceutics*. 2020;12(2):152.