

토끼에 대한 Sangmosu의 국소독성 (일차 피부자극)시험

최설민 · 김대영 · 박요안 · 김주영 · 김형식 · 안미영 · 곽승준 · 최이선* · 이병무#

성균관대학교 약학대학 독성학연구실, 심명생약연구소*

(Received April 19, 1999)

Primary Skin Irritation tests for Sangmosu in Rabbits

Seul Min Choi, Dae Young Kim, Yo An Park, Ju Young Kim, Hyung Sik Kim,
Mi Young Ahn, Seung Jun Kwack, Yi Seon Choi*, Byung Mu Lee#

Division of Toxicology, School of Pharmacy, SungKyunKwan University,
Kyunggi-Do, Suwon 440-746, Korea

*Shim Myung Institute of Herbal Medicine, Chungnang-Ku, Sangbong-dong, 136-65, Korea

Abstract — Primary skin irritation tests for Sangmosu were performed in male New Zealand White rabbits. In primary skin irritation test, body weights were not significantly changed and Primary Irritation Index (P.I.I.) was 0.25, indicating Sangmosu as barely irritating material. These results indicate that Sangmosu was not considered to be irritant in test animals.

Keywords □ Sangmosu, primary skin irritation tests, primary irritation index (P.I.I.).

Minoxidil과 경구용 finasteride인 Propecia는 최근 미국의 식품의약품안전청(USFDA)의 승인을 얻어서 판매되고 있는 약품이다. Minoxidil은 본래 고혈압 치료제로서 개발된 약품으로서 그 효과에 대해서는 많은 과학적 연구가 이루어져 왔다.¹⁻⁷⁾ Propecia는 testosterone을 dihydrotestosterone(DHT)으로 전환시키는 5 α -reductase를 저해하는 약물로서,⁸⁾ 전립선 비대증을 치료하는데 사용되었던 Proscar와 동일한 약물이다.

탈모의 치료에 이용되는 약물 중 androgen의 대사와 활성을 저해하는 약물들은 정상적인 남성의 성적기능에 중요한 역할을 하는 testosterone 농도를 낮추기 때문에 여성들에게만 사용이 제한된다는 단점이 있으며,⁹⁾ 여성에서도 임신중일 경우에는 남자태아의 여성화를 유발하거나 선천성 기형을 유발할 위험성이 동물실험을 통해서 보고 된 바 있다.¹⁰⁾ 생모수는 복분자(모발용

검게 함), 하수오(양모 및 항소염 효과), 상술피(항악창 과열) 및 도인(약혈완화)등을 주원료로 하여 상기 생약 혼합추출물이 갖고 있는 모발에 미치는 영향을 응용하여 육모제로서의 개발이 시도되어 왔다.

본 시험에 사용된 생모수는 심명생약연구소에서 개발되었으며 본 연구실에서 안전성평가의 일환으로 시행된 급성, 아급성 및 안점막 자극시험에서 특이한 독성을 나타내지 않았던 약물이다.¹¹⁻¹³⁾

본 시험에서는 국소독성평가의 일환으로 생모수의 토끼에 대한 피부자극시험을 시행하여 그 안전성을 평가하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 시험물질

실험동물은 제일상사로부터 New Zealand White계 토끼(평균체중 1.6 kg)를 분양받아 모든 동물에 대하여 snuffles와 ear mite의 감염, 피모의 이상유무 및 설사 흔적등을 조사한 후 건강한 동물만을 선별하여 시험에

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 0331-290-7708 (팩스) 0331-290-7728

Table I – Composition of Sangmosu (in 100 ml)

	성분	함량
주성분	산딸기 (복분자)엑스 (생균)	3,000 mg
	붉은조롱 (하수오)엑스 (생균)	4,500 mg
	복숭아씨 (도인)엑스 (생균)	750 mg
	버드나무엑스 (생균)	3,000 mg
	토콜피엑스 (생균)	750 mg
	초산토코페롤 (약전)	100 mg
	염산피리독신 (약전)	50 mg
	판토텐산칼슘 (약전)	200 mg
	니코틴아미드 (약전)	50 mg
	인산리보플라빈 (약전)	5 mg
	이노시톨 (약전)	50 mg
	박하뇌 (약전)	200 mg
	염산디펜히드라민 (약전)	10 mg
용해보조제	라놀린에스테르류 (약전)	10 mg
점도조절제	폴리비닐 피롤리돈 (약전)	30 mg
보습제	글리세린 (약전)	3,000 mg
보존제	파라옥시안식향산 메칠 (약전)	20 mg
	파라옥시안식향산 프로필 (약전)	50 mg
기체	에칠 알콜 (약전)	50 ml
	정제수	32 ml

사용하였다. 시험기간동안 사료 및 물은 자유섭취 시켰다. 실험에 사용한 시험물질인 Sangmosu는 갈색의 액체로서 심명생약연구소에서 제공받았으며 시험개시 전까지 0~4°C에서 보관하였다. 본 시험물질의 100 ml 중 성분은 Table I과 같다.

일차피부자극시험

본 시험에서는 8 마리의 수컷 New Zealand White 계 토끼를 선별하여 사용하였으며 시험물질 투여 약 24 시간 전에 토끼 등의 중앙부위에 윤곽을 표시하였다. 그 후 동물용 전기 clipper로 그 부위를 제모하고, 피부에 손상이 가지않도록 면도를 실시하여 처치구획

과 대조구획으로 나누고, 각각을 비찰과피부와 찰과피부로 나누어 모두 4 부분을 설정하였다. 찰과피부는 면도날을 이용하여 출혈하지 않는 범위내에서 표피만을 찰과하였다. 검체를 처치하기 위해 surgical tape 인 Microfoam(제조회사 3M)의 폭을 0.5 cm로 하여 2.5 cm×2.5 cm크기의 지지체(mold)를 만들고 그 중앙에 가아제(2.5 cm×2.5 cm, 3겹)를 고정시킨다. 시료는 첩포용 밴드가아제에 독성시험 기준에 따라 Sangmosu 0.5 ml를 취하여 토끼 등 피부의 처치구획에 접촉한다. 시험물질을 적용한 후 피부와 밀접해 있는 시험물질을 유지하고 증발을 막기 위해서 토끼의 투여부위는 가아제와 비자극성 테이프로 싸서 안전하게 하였다. 시료는 24 시간동안 1회 적용하였으며, 대조구획에는 시험물질을 가하지 않고 동시에 동일한 방법으로 실시하였다. 종료시 잔유물질은 생리식염수를 탈지면에 적시어 잘 닦아내었다. 시험물질 제거후 약 60분에 각 시험물질을 Draize기법에 따라 홍반과 부종의 정도를 기록하였다.¹⁴⁻¹⁵⁾ 피부반응의 평가는 식품의약품안전청고시 제 1998-116호(1998. 12. 3) “의약품등의 독성시험기준”에 준하여 평가하였으며, 이에 따라 시험물질 투여후 24 시간 72 시간 및 7 일째의 평점을 산출하여, 그 결과에 대한 자극성의 판정은 일차자극지수에 기초하여 시험물질의 자극도를 구분하였다.

Table II – Clinical signs and death rate in male New Zealand White rabbits dermally dressed with Sangmosu

Sex	Dose ^a	Animal No.	General clinical signs	Death rate
Male	0.5 ml	8	No Abnormalities Detected	0/8

^aSangmosu (0.5 ml) was applied to animals.

Table III – Body weights in male New Zealand White rabbits dermally dressed with Sangmosu (Unit : kg)

Animals No.	Days after application				
	0	1	2	3	7
1	1.68	1.70	1.72	1.70	1.74
2	1.87	1.90	1.89	1.82	1.80
3	1.65	1.60	1.58	1.59	1.57
4	1.55	1.58	1.53	1.58	1.58
5	1.72	1.74	1.70	1.72	1.70
6	1.66	1.70	1.66	1.64	1.67
7	1.65	1.69	1.62	1.65	1.62
8	1.78	1.83	1.79	1.73	1.75
Mean ± S.D.	1.70 ± 0.10	1.72 ± 0.11	1.66 ± 0.11	1.68 ± 0.08	1.68 ± 0.08

Table IV – Evaluation of primary skin irritation by Draize's method in male New Zealand White rabbits dermally treated with Sangmosu

Sites	Control site									Test site											
	Erythema & Eschar						Edema			Erythema & Eschar						Edema					
	Intact			Abraded			Intact	Abraded		Intact			Abraded			Intact	Abraded				
Phase	Intact	Abraded		Intact	Abraded		Intact	Abraded		Intact	Abraded		Intact	Abraded		Intact	Abraded				
Time(hr) ^a	24	72	7	24	72	7	24	72	7	24	72	7	24	72	7	24	72	7			
Animal No.																					
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total score	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	2	2	1	0	0	0
Mean score	1			2			0			0			3			5			0		
P.I.I. ^b							3/32=0.09						8/32=0.25								

^a Time after topical application of Sangmosu (0.5 ml)

^b P.I.I. : Primary Irritation Index=Mean score/32.

결과 및 고찰

시험물질 Sangmosu를 토끼 등 피부에 적용할때 시험물질에 기인한 일반증상 및 체중의 변화는 관찰되지 않았으며 사망동물도 발견되지 않았다(Tables II and III). 일차피부자극시험의 결과는 Table IV와 같다. 처치군의 24 시간째 찰과피부에서 8 마리중 2 마리가 미세한 홍반이 발생하였으며 그중 1 마리에서는 가피형성이 관찰되었다. 또한 비찰과피부에서도 1 마리가 미세한 홍반이 나타났다. 무처치군의 비찰과 피부에서는 홍반이나 가피가 관찰되지 않았으며, 찰과 피부에서는 1 마리가 가벼운 정도의 홍반이 발생하였다. 72 시간째 관찰에서는 처치군의 찰과피부에서 2 마리 모두 미세한 홍반이 지속적으로 관찰되었으며 새롭게 홍반이나 가피형성이 관찰되는 개체는 없었다. 비찰과피부에서는 24 시간째 홍반이 관찰되었던 개체 이외에 새롭게 약간의 홍반을 나타내는 1 마리가 관찰되었다. 무처치 피부에서는 비찰과 피부에서 홍반이 나타난 새로운 1 마리가 관찰되었으며 찰과피부에서는 24 시간째 1 마리에서 관찰되었던 홍반이 계속적으로 관찰되었다. 7 일째 관찰에서는 처치군에서 찰과피부의 홍반이 있었던 2 마리는 모두 회복되는 경향을 보였으나 새롭게 1 마리에서 가벼운 홍반이 관찰되었으며 비찰과피부에서 홍반이 관찰되었던 2 마리 모두 회복되는 경향이 뚜렷하게 관찰되었다. 무처치 피부에서는 모

두 정상이었다.

검체를 적용한 후 부종을 관찰한 결과 처치군과 무처치군의 찰과 혹은 비찰과 부위 모두가 정상이었다.

이와 같이 New Zealand White계 토끼에 대한 생모수의 국소독성시험에서 P.I.I.(Primary Irritation Index)는 무처치피부에서 0.09이었고, 처치피부에서는 0.25이었다. 따라서, 생모수는 비자극성인 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 심명생약 연구원의 지원으로 수행했으며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) Toriumi, D. M., Konior, R. J. and Berkold, R. E. : Severe hypertrichosis of the external ear canal during minoxidil therapy. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* **114**(8), 918 (1988).
- 2) Zappacosta, A. R. : Reversal of baldness in a patient receiving minoxidil for hypertension. *New England Journal of Medicine* **18**, 1480 (1980).
- 3) Gobe, G. C. and Strutton, G. M. : An experimental study evaluating the effect of minoxidil on the growth cycle of hair follicles. *Acta Dermatovenereologica* **69**(3), 190 (1989).

- 4) Banden, H. P. and Kubilus, J. : Effect of minoxidil on cultured keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* **82**, 515 (1983).
- 5) Cohen, R. L., Alves, M. E., Weiss, V. C., West, D. P. and Chambers, D. A. : Direct effects of minoxidil on epidermal cells in culture. *J. Invest. Dermatol.* **82**, 90 (1984).
- 6) Uno, H., Cappas, A. and Schlagel, C. : Cyclic dynamics of hair follicles and the effect of minoxidil on the bald scalps of stump-tailed macaques. *Am. J. Dermatopathol.* **7**, 283 (1985).
- 7) Uno, H., Cappas, A. and Brigham, P. : Action of topical minoxidil in the bald stump-tailed macaque. *J. Am. Acad. Dermatol.* **16**, 657 (1987).
- 8) Chen, W., Zouboulis, C. C. and Orfanos, C. E. : The 5 alpha-reductase system and its inhibitors. Recent development and its perspective in treating androgen-dependent skin disorders. *Dermatology* **193**(3), 177 (1996).
- 9) Shaw, J. C. : Antiandrogen therapy in dermatology. *Int. J. Dermatol.* **35**(11), 770 (1996).
- 10) Prahalada, S., Tarantal, A. F., Harris, G. S., Ellsworth, K. P., Clarke, A. P., Skiles, G. L., MacKenzie, K. I., Kruk, L. E., Ablin, D. S., Cukierski, M. A., Peter, C. P., vanZwieten, M. J. and Hendrickx, A. G. : Effects of finasteride, a type2 5-alpha reductase inhibitor on fetal development in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Teratology* **55**(2), 119 (1997).
- 11) 김대영, 최설민, 천선아, 박현선, 우동준, 이미경, 배혜진, 신동훈, 김형식, 안미영, 곽승준, 장자준, 이병무 : 흰쥐에 대한 생모수의 급성 피부독성시험. *J. Toxicol. Pub. Health* (submitted, 1999).
- 12) 박현선, 천선아, 최설민, 김대영, 이미경, 우동준, 배혜진, 신동훈, 김형식, 안미영, 곽승준, 박요안, 장자준, 이병무 : 흰쥐에 대한 생모수의 아급성 경피독성 시험. *Yakhak Hoeji* (submitted, 1999).
- 13) 천선아, 최설민, 김대영, 박현선, 이미경, 우동준, 배혜진, 신동훈, 김형식, 안미영, 곽승준, 박요안, 장자준, 이병무 : 생모수의 토끼 안점막에 대한 국소 자극 시험. *J. Toxicol. Pub. Health* (submitted, 1999).
- 14) Draize, J. H., Woodard, G. and Calvery, H. O. : Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **82**, 377 (1944).
- 15) Marzulli, F. N. and Maibach, H. I. : The rabbit as a model for evaluating skin irritants; A comparison of results obtained on animals and man using repeated skin exposures. *Food Cosmet. Toxicol.* **13**, 533 (1975).
- 16) 식품의약품안전청 : 의약품등의독성시험기준. 식품의약품안전청. Korea (1998).