

자외선 차단제의 SPF 지수와 피부자극지수와와의 상관성 연구

김종원 · 서수경 · 최주영 · 박창원 · 서경원 · 김규봉 · 김광진 · 김재희 · 이선희*
식품의약품안전청 국립독성연구원 안전성평가과

Studies on the Correlation between SPF Index and Skin Irritation Index of Sunscreens

Jong Won KIM, Soo Kyung SUH, Ju Young CHOI, Chang Won PARK, Kyung Won SEO,
Kyu Bong, KIM, Kwang Jin KIM, Jae Hee KIM and Sun Hee LEE*

Division of Safety Evaluation, National Institute of Toxicological Research, KFDA, Seoul, 122-704, Korea

(Received December 12, 2002 ; accepted December 21, 2002)

Abstract - In recent years, the safety of sunscreens has been challenged based on the reports of their adverse effect on users; dermatitis, allergic contact dermatitis and photoallergic contact dermatitis. The unscientific idea that higher SPF sunscreen is good for health mealeads many users to tend to prefer higher SPF sunscreen. In the toxicological aspect, the need to investigate the safety of sunscreens is steadily increasing. However, there were few studies on the correlation between sun protection factor (SPF) and the safety of sunscreens. The objective of this study was to assess whether there was a correlation between SPF and the safety of sunscreens. We measured *in vitro* SPF index using homosalate as a standard and examined the toxicity tests such as primary skin irritation tests, ocular irritation test and skin sensitization test. Homosalate (HS), octyl methoxycinnamate (OMC), octyl salicylate (OS), octocrylene (OC) as UVB organic filter and benzophenone-3 (BP3), butyl methoxy dibenzoi methane (BMDM) as UVA organic filter, and titanium dioxide (TD), zinc oxide (ZO) as inorganic filters were used. The skin irritation indexes in rabbits treated with HS, OMC, OS, BP3, and BMDM were significantly increased as SPF indices were increased. Neither ocular irritation in rabbits nor skin sensitization in guinea pigs were increased. It suggests that there might be a good correlation between SPF and the skin irritation indices of organic UV filters and skin irritation might be onc of most sensitive index to assess the safety of sunscreens.

Key words □ sunscreens, SPF index, cosmetic safety, organic filters, skin irritation

화장품 산업은 첨단종합과학을 응용하여 고부가가치를 창출할 수 있는 선진미래형 정밀화학 산업으로서, 프랑스 등 선진국에서는 중요 전략산업으로 발전되어 왔다. 우리 나라에서도 2000년 7월 화장품법 제정에 따라 기능성 화장품의 개발에 대한 관심과 투자가 급증하고 있어 기능성화장품의 특성을 고려한 안전성 평가가 절실히 요구되고 있다.

자외선차단제의 경우는 특히 자외선조사에 따른 안전성 확보가 중요하여 우리 나라 뿐만 아니라 선진 각국에서도 안전성이 확보된 성분만을 고시하여 화장품 원료로 사용하도록 규정하고 있는 상태에 있다. 따라서 국가적 차원에서 세계적인 사용례를 검토하고 과학적인 연구를 통하여 자외선차단제에 특이적인 안전성 관리를 철저히 하여야 한다.

본 연구에서는 개발의 증가가 예상되는 기능성화장품 중 자외선차단제의 안전성 평가에 초점을 맞추었다. 자외선 차단제로 사용되는 성분은 화학적인 작용에 의한 것인 UVB, UVA 유기차단제와 물리적인 작용에 의하여 자외선 차단작용을 나타내는 성분인 무기차단제로 분류할 수 있다(Gasparro 등, 1998). 이들 성분은 배합 비율과 함량에 따라 SPF 지수가 변하게 되며, 피부에 대한 영향도 달라질 수 있다(Gasparro 등, 1998).

SPF 지수에 대한 잘못된 인식으로 인하여 SPF지수가 높은 제품이 남용가능성이 있는 반면, 최근 자외선 차단제로 인한 부작용 사례들이 보고(Nohynck 등, 2001; Gasparro 등, 1998; Diffey 등, 2000)되고 있어 독성학적 측면에서 자외선 차단제의 안전성에 대한 심도있는 연구가 필요한 실정이다.

화학적 작용에 의한 유기 자외선차단제인 octyl methoxycinnamate (OMC)의 SPF지수가 증가함에 따라 피부자

*To whom correspondence should be addressed.

극도가 증가하는 것을 나타내어 SPF지수와 피부자극도가 높은 상관성이 있음을 알 수 있었다(Suh 등, 2002). 따라서 본 연구에서는 물질특성에 따른 SPF지수와 안전성과의 상관성을 연구하기 위하여 UVB, UVA 유기 차단제 및 무기 차단제로 실험을 수행하였다.

실험방법

실험재료

시험물질은 homosalate (HS), octyl methoxycinnamate (OMC), octyl salicylate (OS), octocrylene (OC), benzophenone-3 (BP-3), butyl methoxy dibenzoyl methane (BMDM), titanium dioxide (TD), zinc oxide (ZO)은 H&R Co. (Germany)에서 구입하였으며, stearic acid, methylparaben, lanolin, propyl 4-hydroxybenzoate, lauryl sulfate sodium, propylene glycol, triethanolamine, EDTA 등의 시약은 Sigma Chemical Co. (MO, USA)에서 구입하였으며, 그외의 시약은 특급 이상의 것을 사용하였다.

실험기기

자외선차단지수측정에는 SPF290S Analyzer System (Optometrics, USA)을 사용하였다.

실험동물

일차피부자극시험, 안점막자극시험을 위한 실험동물은 5주령의 New Zealand White계 토끼(체중 2.0~3.0 Kg)를 수령하여 1주일간 순화기간을 두었다. 알루미늄 합금제로된 455 mm×630 mm×335 mm의 사육상자에 한 마리씩 수용하였으며, 실내온도 23±2°C, 상대습도 50±20%, 명암교대 12시간(조명시간 06:00-18:00)의 조건으로 사육하였으며, 사료는 토끼용 고형사료를, 음수는 상수도수로 매일 제공하여 자유롭게 섭취하도록 하였다. 안점막자극시험의 경우 육안적인 검사로 불충분한 상태라고 판단될 경우에는 확대경 또는 Slit lamp로 검사를 하거나 0.5% sodium fluorescein 용액을 점안 후 검사하여 건강한 좌우 양안을 갖는 토끼를 시험에 사용하였다.

피부감작성시험을 이용한 실험동물은 식품의약품안전청의 barrier 시설내에서 생산사육된 수컷 Hartley계 기니픽을 동물사육조건(온도 23±1°C, 습도 55±5%, 배기 10-18회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 300-500 Lux)의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(275 mm×420 mm×190 mm)에 2마리씩 사육하였으며, 1주일간의 순화사육기간동안에 관찰하여 체중이 평균이상이며, 특이한 외형상의 문제점이 나타나지 않는 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 신촌사료회사에서 실험동물사료를 구입하

여 고압증기 멸균기에서 121°C, 15분간 멸균한 다음, 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

표준시료의 조제

FDA 및 식품의약품안전청에서 제시하는 자외선차단효과측정방법 및 기준제정고시(식품의약품안전청고시 제2001-72호)에서 SPF시험방법의 낮은 SPF 표준시료로서 제시하는 8% homosalate를 제조하는 기제의 조성을 따라서 HS, OMC, OS, OC, TD는 아래와 같이 제조하였다.

Preparation A와 B를 분리하여 77~82°C까지 가열하면서 각각의 성분이 완전히 용해될 때 까지 교반을 지속하면서 상온(30°C)까지 냉각시 Preparation A를 천천히 Preparation B에 넣으면서 유화가 형성될 때까지 교반시켜 크림형태의 기제를 제조하였다.

BP3, BMDM, ZO의 경우 표준기제에 용해되지 않아, 기제가 자외선차단화장품의 일반조성에 따라 조제하였다(데이타 생략).

In vitro SPF 측정법

시험물질을 표준시료를 사용하여 농도별로 현탁시켜 transpore tape (I527-3.3 M)에 균일하게 도포하고 15분 후 blank tape를 먼저 넣고, reference tape를 측정된 다음 시험물질을 도포하여 자외선 차단지수를 측정하였다.

토끼를 이용한 피부자극시험

실험기시 24시간 전에 토끼의 등 중앙을 중심으로 15×20 cm²의 넓이로 제모하고, 24시간 후 OMC 표준시료를 5, 10, 30 및 50%의 농도가 되도록 현탁시킨다. 일차피부자극시험에서는 제모한 토끼의 등에 0.5 ml의 시험물질을 포함하는 패취(2.5×2.5 cm²)를 부착하여 24시간 패취를 제거하고 증류수로 가볍게 씻어낸 후 관찰하여 피부의 홍반, 가피 및 부종 등을 관찰하여 국립독성연구원 표준작업지침서에 따라 측정하여 피부반응평점표를 작성하였다.

피부 반응을 평점화 한것을 이용하여 약물투여 후 24시간과 72시간 때의 홍반 평점과 부종 평점을 더해서 평균치를 산출하고, 이 수치를 P.I.I (Primary Irritation Index: 일차자극지수)라하고 이 값을 구하였으며, P.I.I값에 의해 일차자극성의 강도를 다음 피부일차 자극표에 의해 구분하여 평가한다. 간략히 설명하면, 피부자극지수가 0.0-0.5은 비자극성, 0.6-2.0은 약한 자극성, 2.1-5.0은 중등도 자극성, 5.1-8.0은 강한 자극성으로 평가하였다.

토끼를 이용한 안점막자극시험

기능성화장품의 심사에 관한 규정(식품의약품안전청고시 제2000-33호)에 따라 수행하였으며, 적용한 동물수

는 OECD 국소독성시험기준(OECD, 1987)에서 제시하는 농도당 3마리씩을 사용하였고, 비세척군으로 하여 한쪽 안구에 파이펫을 이용하여 0.1 ml을 한쪽눈의 하안검을 안구로부터 당겨서 결막낭내에 투여하고 상하안검을 약 1초간 서로 맞춘다. 다른쪽 눈을 미처치 그대로 두어 무처치 대조안으로 하였다.

임상증상, 사료섭취 및 음수상태 등에 대하여 매일 관찰하였으며, 체중측정은 점안개시 직전 및 점안후 7 일째에 측정하였다. 시험물질을 투여하지 않은 다른 쪽 눈을 대조로 하여, 시험물질 투여후 1, 24, 48, 72시간 후에 눈을 관찰하여 각막의 혼탁 및 혼탁된 각막의 범위, 홍채의 반응, 결막의 발적, 부종 및 배출물 유무 등의 변화를 관찰하거나 확대경 및 손전등을 이용하여 관찰하였다.

안구병변의 판정은 Draize 방법 및 “의약품등의 독성 시험기준(식품의약품안전청고시 제1999-61호)”의 제9조 국소독성시험의 안구병변 등급표 및 “기능성화장품의 심사에 관한 규정(식품의약품안전청고시 제2000-33호)”에 따라 각 항목의 점수를 부여하였다.

안구병변은 각막, 홍채 및 결막을 관찰하여 평점하고 안점막자극 평점표를 작성하였다. 관찰 결과의 판정은 총 점수 합계의 평균 (0-110점 범위)으로부터 각 개체별 합계평점의 합을 마리수로 나눈 값 평균안구자극지수 (Mean Index of Ocular Irritation, M.I.O.I)를 구하였다.

관찰결과 판정은 각각의 판정일 각 마리 총점 [0~110점 범위, The Individual Index of Ocular Irritation (I.I.O.I.)]의 합을 마리수로 나눈 평균 값인 Mean Index of Ocular Irritation (M.I.O.I.), 관찰기간 중 M.I.O.I.의 최대값인 The Index of Acute Ocular Irritation (I.A.O.I.) 및 Day-7 I.O.I. (Individual ocular irritation index: 7일째의 각각 동물의 득점) 등의 값으로 안점막자극성의 강도를 안점막자극표에 의해 구분하여 평가하며, 평가치의 조건이 표에 만족되지 아니하면, 평가구분에 1단계 약하게 한다. 안점막 자극 판정을 간략히 설명하면 무자극물의 M.I.O.I.는 0(48시간후), 경도 자극물의 경우는 ≤ 5 (48시간후), 자극물의 경우는 ≤ 5 (4일후), 중등도 자극물의 경우는 ≤ 20 (7일후), 중강도 자극물은 ≤ 40 (7일후)로 판정하였다.

기니픽을 이용한 피부감작성시험

시험방법은 전통적인 기니픽을 이용한 Maximization법 (Magnusson과 Kligman, 1969)에 따라 실시하였다. 시험은 크게 예비시험과 본시험으로 나누며 각각 감작단계와 야기단계로 나누어 실시하였다.

예비시험은 시험물질의 피내주사에 의한 감작시 감작 항원량과 폐색침포에 의한 감작 및 야기시의 항원량 결

정단계로 나누어 실시하였다. 시험물질을 제모한 기니픽의 등에 주사기(주사바늘 26 $\frac{1}{2}$ Gauge)를 사용하여 0.1 ml 씩을 피내주사하였다. 각 농도별로 2마리씩 사용하며 24 시간 후에 주사부위를 관찰하여 2마리 기니픽에서 모두 다 피부피사가 나타나지 않은 최고농도를 선택하여 본시험 감작항원량으로 결정하였다. 시험물질을 제모한 기니픽의 측복부에 단계별 0.2 ml을 포함하는 패취(Whatman #3 filter paper, 2×4 cm)를 부착하여 24시간 폐색침포하였다. 각 농도별로 2마리의 기니픽을 사용하며, 2 마리 모두에서 홍반이 나타나지 않는 용량을 2차 감작항원량으로 하였으며, 야기 항원량은 홍반이 나타나지 않은 최대농도로 결정하였다.

본시험의 경우 일차감작은 피내주사를 하기 위해 제모된 등 부위의 가능한 한 투여면적을 2×4 cm 부위를 주사기를 사용하여 좌우대칭의 3부분(상부, 중부, 하부)에 시험물질 및 양성대조물질 0.1 ml 피내주사하여 일주일간 경과하였다. 2차감작은 1차 감작 1주 후 시험물질을 피내주사했던 동일부위를 제모하였다. 피내주사부위에 10% Sodium Lauryl Sulfate (SLS)를 조제하여 도포한 후 유리막대로 맛사지하여 약한 피부자극을 유발하였다. 24시간 후 시험물질 1ml를 포함하는 패취(Whatman #3 filter paper, 2×4 cm)를 부착하고, 불침투성의 플라스틱반창고(4 cm 3 M bander)로 시료가 흘러나오지 않게 잘 덮고 몸통을 둘러쌀 수 있는 탄력봉대(6.4 cm폭)로 동물의 행동에 지장이 없도록 단단히 폐색침포하여 48시간 동안 경과하였다. 야기단계는 폐색침포에 의한 2차 감작 2주 후 등 부위 또는 측복부(감작부위와는 다른 부위)를 2×4 cm로 제모한 후 시험물질을 포함하는 패취(Whatman #3 filter paper, 2×4 cm)를 부착하여 24시간 폐색침포하였다.

시험기간 중 매일 1회 일반증상을 관찰하였으며, 시험기간 중 투여개시전, 투여 후 7, 14, 21일에 총 4회 체중을 측정하였다. 검사 항목 중 체중변화와 관련하여서는 비모수적방법의 다중비교법으로서 Kruskal-Wallis test를 이용하여 유의수준 0.05 혹은 0.01에서 실시하였다.

관찰 3시간 전에 시험부위에 남아있는 시험물질을 미온수로 깨끗이 닦아낸 후에 홍반 및 부종이 있는지의 여부를 확인하고 정도를 Magnusson과 Kligman (1969)의 평가기준에 의하여 평가하였다. 피부반응의 평가기준을 간략히 설명하면, 점수 0은 무반응, 점수 1은 홍반이 적용부위에 흩어져 나타난 경우, 점수 2는 홍반이 적용부위 전체에 나타난 경우, 점수 3은 전체적으로 강한 홍반 및 부종이 나타난 경우로 구분하였다. 피부감작성의 평가기준을 간략히 설명하면, 감작율 0%(등급 -)은 무반응, 1-8%(등급 I)는 매우 약함, 9-28%(등급 II)는 약함, 25-64%(등급 III)는 보통, 65-80%(등급 IV)은 강함, 81-100%(등급 V)는 매우 강함으로 분류된다. 또한 느리게

반응이 진행되고 있는지를 알아보기 위하여 국소야기 48 시간 후에 더 평가하였다.

실험결과

자외선차단지수 측정

HS, OMC, OS, OC, BP3, BMDM, TD, ZO 표준시료의 *In vitro* SPF 지수를 측정한 결과 자외선차단제의 함량을 증가시킴으로서 SPF지수가 증가하여 용량의존적인 증가 양상을 보여주었다.

토끼를 이용한 피부자극성시험

시험기간동안에 시험물질에 기인한 체중변화, 임상증상, 폐사 등은 관찰되지 않았으며, HS 시료에 대한 24시간, 72시간 경과 후의 피부자극성을 판독한 결과, 음성대

조군은 자극이 없었으며, 30, 40, 50%의 24시간의 경우 각각 1.33점, 1.83점, 2.17점의 홍반과 0.33점, 0.67점, 0.83점의 부종을 보였으며, 72시간의 경우 각각 0.83점, 1.50점, 1.83점의 홍반과 0.33점, 0.33점, 0.67점의 부종을 나타내었다. OMC 시료에 대한 24시간, 72시간 경과 후의 피부자극성을 판독한 결과, 음성대조군은 자극이 없었으며, 10, 30, 50%의 OMC 시료의 경우 24시간의 경우 각각 1.08점, 2.17점, 2.83점의 홍반과 0.00점, 0.92점, 1.58점의 부종을 보였으며, 72시간의 경우 각각 0.50점, 1.25점, 1.58점의 홍반과 0.00점, 0.42점, 0.92점의 부종을 나타내었다. OS 시료에 대한 24시간, 72시간 경과 후의 피부자극성을 판독한 결과, 음성대조군은 자극이 없었

Table 1. SPF index of different concentrations of sunscreens

Chemical	Concentrations. (%)	SPF index
		01.03
HS ^{a)}	30	9.99
	40	12.89
	50	16.07
OMC	0	1.04
	10	11.27
	30	14.62
	50	17.94
OS	0	1.03
	10	6.08
	30	8.97
	50	9.78
OC	0	1.01
	10	5.84
	30	21.80
	50	31.73
TD	0	1.02
	10	13.46
	30	25.12
	40	24.72
BP3	1	2.41
	3	6.05
	5	9.12
BMDM	1	2.06
	3	4.67
	5	7.00
ZO	10	10.61
	20	13.11
	30	15.76

^{a)}OS, octylsalicylate; OC, octocrylene; BP3, benzophenone-3; BMDM, butylmethoxydibenzoyl methane, TD, titanium dioxide; ZO, zinc oxide.

Table 2. Skin irritation index of different concentration of sunscreens in rabbits

Chemical	Conc. (%)	Animal No.	Erythema and eschar formation		Edema formation		P.I.I. ^{a)}
			24 h	72 h	24 h	72 h	
	0	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HS	30	3	1.33	0.83	0.33	0.33	0.71
	40	3	1.83	1.50	0.67	0.33	1.08
	50	3	2.17	1.83	0.83	0.67	1.38
OMC	0	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	10	3	1.08	0.50	0.00	0.00	0.40
	30	3	2.17	1.25	0.92	0.42	1.19
	50	3	2.83	1.58	1.58	0.92	1.73
OS ^{b)}	0	3	0.83	0.17	0.00	0.00	0.25
	10	3	1.67	1.17	0.33	0.17	0.83
	30	3	2.00	1.50	1.00	0.50	1.25
	50	3	2.33	1.83	1.33	0.67	1.54
OC	0	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	10	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	30	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	50	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TD	0	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	10	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	30	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	40	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
BP3	1	3	2.45	1.85	1.55	1.00	1.71
	3	3	2.75	2.25	1.65	1.35	2.00
	5	3	2.85	2.40	2.00	1.55	2.20
BMDM	1	3	2.00	1.45	1.05	0.50	1.25
	3	3	2.20	1.60	1.30	0.50	1.40
	5	3	2.33	1.83	1.33	0.67	1.54
	10	3	0.75	0.25	0.00	0.00	0.20
ZO	20	3	0.83	0.50	0.43	0.24	0.50
	30	3	0.83	0.50	0.43	0.24	0.50

^{a)}P.I.I.: Primary irritation index, Σ Total score/(Animal No. × 4).

^{b)}OS, octylsalicylate; OC, octocrylene; TD, titanium dioxide; BP3, benzo-phenone-3; BMDM, butylmethoxydibenzoyl methane, ZO, zinc oxide

며, 10, 30, 50%의 OS 시료의 경우 24시간의 경우 각각 1.67점, 2.00점, 2.33점의 홍반과 0.33점, 1.00점, 1.33점의 부종을 보였으며, 72시간의 경우 각각 1.17점, 1.50점, 1.83점의 홍반과 0.17점, 0.50점, 0.67점의 부종을 나타내었다(Table 1).

OC, TD 시료는 10%, 30%, 50%에 대한 토끼를 이용한 피부자극시험을 수행하였다. 24시간, 72시간 경과 후의 피부자극성을 판독한 결과, 피부자극을 나타내지 않았다(Table 2).

BP3 시료는 1%, 3%, 5%에 대한 토끼를 이용한 피부자극시험을 수행하였다. BP 시료에 대한 24시간, 72시간 경과 후의 피부자극성을 판독한 결과, 1, 3, 5%의 BP 시료의 경우 24시간의 경우 각각 2.45점, 2.75점, 2.85점의 홍반과 1.55점, 1.65점, 2.00점의 부종을 보였으며, 72시간의 경우 각각 1.85점, 1.25점, 2.40점의 홍반과 1.00점, 1.35점, 1.55점의 부종을 나타내었다(Table 2).

ZO 시료는 10%, 30%, 50%에 대한 토끼를 이용한 피부자극시험을 수행하였다. 24시간, 72시간 경과 후의 피부자극성을 판독한 결과, 피부자극을 나타내지 않았다(Table 2).

토끼를 이용한 안점막자극시험

시험기간동안에 시험물질에 기인한 체중변화, 임상증상, 폐사 등은 관찰되지 않았으며, 토끼를 이용한 안점막자극시험 결과 음성대조군과 모든 투여군에서 안점막자극을 유발하지 않았다(Table 3).

Table 3. Eye irritation index test of tested sunscreens in rabbits

Chemical	Treated animal	Time after treatment							A.O.I. ^{b)}
		1 hr	24 hrs	48 hrs	72 hrs	4 days	7 days		
HS ^{c)}	3	0 ^{a)}	0	0	0	0	0	0.00	
OMC	3	0	0	0	0	0	0	0.00	
OS	3	0	0	0	0	0	0	0.00	
OC	3	0	0	0	0	0	0	0.00	
BP-3	3	0	0	0	0	0	0	0.00	
BMDM	3	0	0	0	0	0	0	0.00	
TD	3	0	0	0	0	0	0	0.00	
ZO	3	0	0	0	0	0	0	0.00	

Total score=(Cornea opacity×area of cornea involved×5)+(Iris lesion×5)+(Conjunctiva redness+chemosis+exudate)×2.

^{a)}M.O.I (Mean ocular irritation index): total score/tested animal No. in each observation time.

^{b)}A.O.I. (Acute ocular irritation index): Maximum among M.O.I. (0~5, non irritant; 5~15, minimally irritant; 15~30, mildly irritant; 30~60, moderately irritant; 60~80, severely irritant; 80~100, extremely irritant).

^{c)}OS, octylsalicylate; OC, octocrylene; BP3, benzophenone-3; BMDM, butylmethoxydibenzoyl methane, TD, titanium dioxide; ZO, zinc oxide.

Table 4. Skin sensitization test of tested sunscreens in guinea pigs

Chemical	Treated animal	Sensitization score ^{a)}	Sensitization rate (%) ^{b)}	Grade ^{c)}
HSd)	5	0	0	-
OMC	5	0	0	-
OS	5	0	0	-
OC	5	0	0	-
BP3	5	0	0	-
BMDM	5	0	0	-
TD	5	0	0	-
ZO	5	0	0	-
DNCB	5	1.8	100	V

^{a)}Score 0, no reaction; 1, scattered mild redness; 2, moderate and diffuse redness; 3, intense redness.

^{b)}No. of positive animals/no. of total animal×100.

^{c)}Grade -, no reaction; Grade I (0~8%), weak sensitizer; Grade II (9~28%), mild sensitizer; Grade III (29~64%), moderate sensitizer; Grade IV (65~80%), strong sensitizer; Grade V (81~100%), extreme sensitizer; estimated allergen showed above 29% of positive response.

^{d)}OS, octylsalicylate; OC, octocrylene; BP3, benzophenone-3; BMDM, butylmethoxydibenzoyl methane, TD, titanium dioxide; ZO, zinc oxide.

기니피크를 이용한 피부감작성시험

시험기간동안에 시험물질에 기인한 체중변화, 임상증상, 폐사 등은 관찰되지 않았으며, 피부감작성 시험결과 시험된 모든 자외선차단제 및 대조물질 처치군의 경우 모든 동물에서 홍반, 가피, 부종 등의 증상은 전혀 관찰되지 않았다(Table 4). 양성대조군(DNCB)에서는 모든 동물에서 24, 48, 72시간에 명백한 홍반(양성률: 100%)이 관찰되었다.

SPF 지수와 안전성과의 상관성 연구

SPF지수와 피부자극시험의 피부자극지수와 상관성을 연구하였다. 상관계수는 SPF 지수를 독립변수로 두고, 종속변수를 피부자극지수로 놓고 산출하였다.

OMC의 함량에 대한 *in vitro* SPF지수를 독립변수로 하였으며, 피부자극지수를 종속변수로 하여 상관성을 확인한 결과 SPF 지수에 대해서 피부자극지수가 일정하게 증가되는 양상을 볼 수 있었으며, 상관계수는 $r^2=0.986$ 으로 산출되었다(Suh 등, 2002).

Homosalate의 함량에 대한 *in vitro* SPF지수를 독립변수로 하였으며, 피부자극지수를 종속변수로 하여 상관성을 확인한 결과 SPF 지수에 대해서 피부자극지수가 일정하게 증가되는 양상을 볼 수 있었으며, 상관계수는 $r^2=0.996$ 으로 산출되었다(Fig. 1).

OS의 함량에 대한 *in vitro* SPF지수를 독립변수로 하였으며, 피부자극지수를 종속변수로 하여 상관성을 확인한 결과 SPF 지수에 대해서 피부자극지수가 일정하게

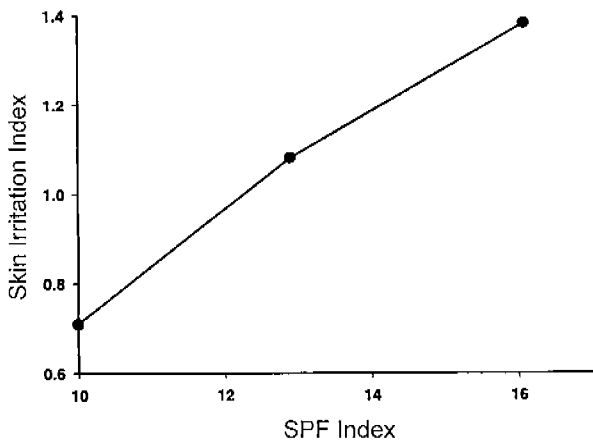


Fig. 1. Comparison of correlation coefficient of the skin irritation index with SPF index treated with different concentration of homosalate.

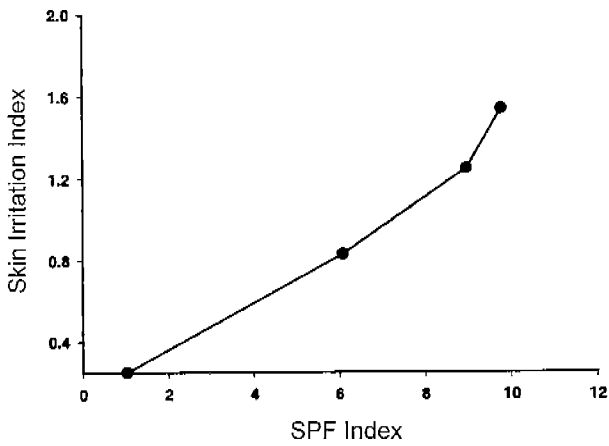


Fig. 2. Comparison of correlation coefficient of the skin irritation index with SPF index treated with different concentration of octyl salicylate.

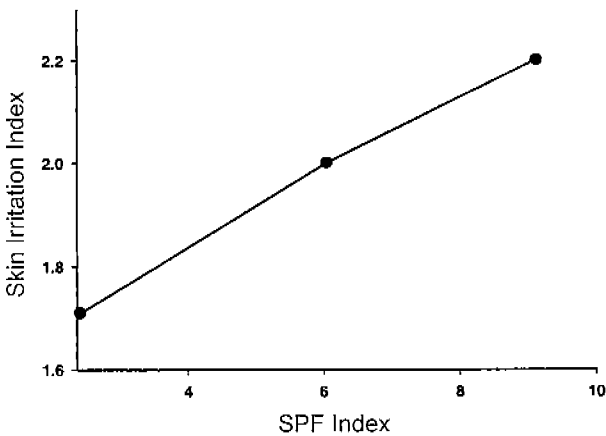


Fig. 3. Comparison of correlation coefficient of the skin irritation index with SPF index treated with different concentration of benzophenone-3.

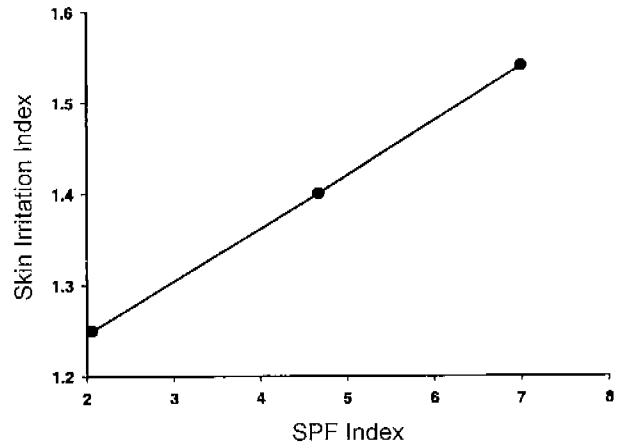


Fig. 4. Comparison of correlation coefficient of the skin irritation index with SPF index treated with different concentration of butylmethoxydibenzoylmethane.

증가되는 양상을 볼 수 있었으며, 상관계수는 $r^2=0.931$ 으로 산출되었다(Fig. 2).

BP3, BMDM의 함량에 대한 *in vitro* SPF지수를 독립 변수로 하였으며, 피부자극지수를 종속변수로 하여 상관성을 확인한 결과 SPF 지수에 대해서 피부자극지수가 일정하게 증가되는 양상을 볼 수 있었다(Fig. 3, 4).

SPF지수와 OC, TD, ZO의 피부자극시험과의 상관성은 피부자극을 유발하지 못하였기 때문에 상관성을 구할 수 없었다.

SPF 지수와 안점막자극시험 및 피부감작성시험과의 상관성은 안점막자극 및 피부감작성을 유발하지 못하였기 때문에 구할 수 없었다.

고 찰

자외선차단제는 화장품법에서 규정하는 기능성화장품에 속한다. 자외선차단화장품에 사용되는 자외선차단제는 유기 자외선차단제와 무기 자외선차단제로 구분할 수 있다 (Gasparro 등, 1998). 유기 자외선차단제는 자외선 스펙트럼의 특정부위를 흡수해서 일반적으로 에너지가 적고, 파장이 긴 열에너지 또는 빛에너지로 변환시켜 다시 내보내거나 cis-trans 또는 keto-enol photochemical iso-merization과 같은 광화학반응을 일으킨다. 무기 자외선차단제는 자외선을 반사, 산란시켜 자외선으로부터 보호하여 안전하고 특히 UVA를 막는데 효과적이며, 유기 자외선차단제의 부작용이 없는 장점이 있으며, 피부에 침투하지 못하고, 빛에너지에 크게 영향을 받지 않기 때문에 최근 10여년간 무기 자외선차단제 제품은 사용이 증가하고 있다. 이러한 자외선차단제는 개별성분에 대한 허용도로는 충분히 높은 SPF에 도달할 수 없고, 단일 성분으로는 스펙트럼이 좁기 때문에 대부분 복합성분으로 스펙트럼을 넓힌 자외선차단

제로 개발하게 된다(Gasparro 등, 1998). 유기 자외선차단제는 UVB 및 UVA 유기 자외선차단제로 구분되며, UVB를 차단하는 OMC, HS, OS, OC 등과 UVA를 차단하는 BP3, BMDM 등이 있다. 무기 자외선차단제로 가장 많이 쓰이는 것으로 ZO와 TD가 있다(Gasparro 등, 1998).

자외선차단제의 관리체계를 살펴보면, 자외선차단제 성분은 배합 비율과 함량에 따라 SPF 지수를 변화시킬 수 있고, 제조사들은 SPF 지수를 높이기 위하여 여러 가지 성분을 배합하여 사용되는 추세이며, 자외선차단제의 경우 특히 자외선 조사에 따른 안전성확보가 중요하여 우리나라 뿐만 아니라 선진 각국에서도 안전성이 확보된 성분만을 고시하여 화장품 원료로 사용하도록 규정하고 있다.

자외선에 의한 피부 손상에 대한 일반인들의 관심이 증가하여, 자외선차단제의 수요는 증가 일로에 있다. 또한 그로 인한 자외선차단제의 부작용으로서 자극, 피부염, 알레르기성 접촉피부염, 광알레르기성 접촉피부염 등의 부작용사례들이 보고(Nohynek 등, 2001; Gasparro 등, 1998; Diffey 등, 2000)되고 있어 독성학적 측면에서 자외선 차단제의 안전성에 대한 심도있는 연구가 필요할 것으로 생각된다. 한편 일반적으로 일반인에게 공개되는 정보는 SPF지수에 불과하여 SPF 지수와 자외선차단제의 안전성과의 상관관계를 규명하면 일반인들도 쉽게 부작용에측이 가능할 것으로 보인다.

본 연구에서는 물질특성에 따른 SPF지수와 피부자극 지수와와의 상관성을 연구하기 위해 시험물질로서는 UVB 유기차단제로서 HS, OS, OC를, UVA 유기차단제로서 BP3, BMDM, 무기차단제로서 TD, ZO를 선정하였으며, 자외선차단제뿐만 아니라 포함되어있는 기타 성분의 영향을 배제하기 위하여, 식품의약품안전청고시에서 원하는 표준시료의 조성에 따라 사용하였으며, *in vitro* SPF 지수를 측정하였고, 표준기체에 용해되지 않았던 BP3, BMDM, ZO의 경우 기허가 자외선차단화장품의 일반조성에 따라 조제하였다.

In vitro SPF 지수를 측정할 결과, 시험된 모든 자외선차단제는 무기, 유기, UVB, UVA에 상관없이 함량이 증가함에 따라, SPF지수도 증가하였다.

SPF지수에 따른 피부자극지수를 측정한 결과, HS, OS, BP3, BMDM의 경우는 SPF지수가 증가함에 따라 피부자극지수도 증가하였다. 그러나, OC, TD, ZO의 경우에는 SPF가 증가와 상관없이 피부자극을 유발하지 않았다.

또한 토끼를 이용한 안점막자극시험 및 기니피그를 이용한 피부감작성시험에서 모든 자외선차단제는 무기, 유기, UVB, UVA에 상관없이 안점막 및 피부감작성을 유발하지 않았다.

본 연구결과에서 SPF지수에 대해서 HS, OS, BP3, BMDM의 경우 피부자극지수가 일정하게 증가되었으며,

HS, OMC, OS의 상관계수는 각각 0.996, 0.986, 0.931의 높은 상관성을 나타내었다. 이상과 같은 연구결과에서 SPF 지수와 유기차단제의 피부자극과의 상관성이 있었으며, 자외선차단제의 안전성을 평가함에 있어, 피부자극시험이 가장 민감한 시험법임을 시사한다.

감사의 말씀

본 연구는 식품의약품안전청의 화장품안전관리사업의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

- Diffey, B.L., Tanner, P.R., Matts, P.J. and Nash, F.: *In vitro* assessment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 43, 1024-35, 2000.
- Draize, J.H., Woodard, G. and Calvery, H.O.: Methods for the studying of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membrane. *J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 82, 377-390, 1994.
- Gasparro, F.P., Mitchnick, M. and Nash, F.: A review of sunscreen efficacy. *Photochemistry and Photobiology*, 68, 243-256, 1998.
- Magnusson, B. and Kligman, A.M. : The identification of contact allergen by animal assay. The guinea pig maximization test. *J. Invest. Dermatol.*, 52, 268-276, 1969.
- Nohynek, G.J. and Schefert, H.: Benefit and risk organ ultraviolet filters. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 33, 285-299, 2001.
- Schlumpf, M., Cotton B., Consciencce, M., Haller, V., Steinmann, B. and Lichtensteiger, W. : *In vitro* and *in vivo* estrogenicity of UV screens. *Environmental Health Perspectives*, 109, 239-44, 2001.
- Suh, S.K., Kim, J.W., Choi, J.Y., Seo, K.W., Park, C.W., Kim, K.B., Kim, K.J., Kim, J.H., and Lee, S.H.: Studies on the correlation SPF index with primary irritation index of octylmethoxycinnamate, *Environ. Mutagens & Carcinogens*. in press.
- 국소독성시험기준, 국립독성연구소 표준작업지침서(I), 493-508, 1999.
- 국소독성시험기준, 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청고시 제1999-61호, 52-55, 1999.
- 기능성화장품등의심사에관한규정, 식품의약품안전청 고시 제2000-64호, 제2000-68호, 2000.
- 자외선차단효과측정방법 및 기준제정고시, 식품의약품안전청 고시 제2001-72호, 2001.
- 피부감작성시험기준, 국립독성연구소 표준작업지침서(II), 161-164, 1999.
- 피부감작성시험기준, 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청고시 제1999-61호, 47, 1999.
- 화장품원료지정과기준및시험방법등에관한규정 [별표3], 식품의약품안전청고시 제2000-27호, 2000.