

상백피 추출물을 효소전환 하여 생성한 oxyresveratrol 및 oxyresveratrol-3-O-glucoside의 피부 자극성 및 감작성 평가

박근태 · 김정근¹ · 임영희*

고려대학교 보건과학대학 임상병리학과, ¹한국산업기술대학교 생명화학공학과

Evaluation on Skin Irritation and Sensitization of Oxyresveratrol and Oxyresveratrol-3-O-glucoside Produced by Biotransformation of *Morus alba* Extract

Keun-Tae Park, Jeong-Keun Kim¹, and Young-Hee Lim*

Department of Biomedical Science, College of Health Science, Korea University

¹Department of Chemical Engineering and Biotechnology, Korea Polytechnic University

Abstract Stilbenes are known as antioxidants and some of them demonstrate anti-pigmentation activity. The purpose of the present study was to investigate whether two stilbene compounds produced by biotransformation of the extract of *Morus alba* root show skin irritation and sensitization. In skin irritation test, 1% oxyresveratrol (OXY), and 5% OXY, and 1% oxyresveratrol-3-O-glucoside (OXY-3) showed a P.I.I score of 0, 0.04, and 0, respectively. Accordingly, the two stilbenes were evaluated to be virtually 'non-irritant' materials. In a skin sensitization study by GPMT, 1% OXY, 5% OXY, and 1% OXY-3 did not cause edema and erythema at 24 h and 48 h after topical application and exhibited a sensitization score of 0 and a rate of 0%. Consequently, it was confirmed that OXY and OXY-3 had no contact allergic sensitization in GPMT. Therefore, OXY and OXY-3 might be potential candidates as skin-whitening agents without posing any serious side effects.

Keywords: skin irritation, skin sensitization, *Morus alba* extract, guinea pig maximization test

서 론

상백피는 여러 가지 효능이 월등하여 예로부터 가정 의학으로 널리 사용되어 왔다. 최근에는 피부 보습과 미백 효과가 알려지면서 미백제 개발에 대한 시도가 이루어 지고 있다. 주요 미백 유효성분으로 mulberroside A, astragalín, piceide 등이 알려져 있으나 그 중 mulberroside A 대한 미백제 개발이 국내에서 이루어 지고 있다. 상백피 뿌리 에탄올 추출물에서 분리 정제한 2개의 glucose를 함유하고 있는 배당체 mulberroside A 및 mulberroside A를 효소 전환하여 aglycone으로 전환시킨 oxyresveratrol(OXY) 및 oxyresveratrol-3-O-glucoside(OXY-3)는 항산화 효과, 피부미백 효과 등이 보고되어 있고, 특히 자외선 조사에 의해 pigmentation 이 유도된 피부에 유효한 미백효과가 입증되어 화장품 원료로도 기대를 모으고 있다(1-3). 미백효과에 있어서 배당체인 mulberroside A, 비배당체인 oxyresveratrol 및 당이 1개 제거된 oxyresveratrol-3-O-glucoside의 미백효과를 비교한 연구에서 oxyresveratrol의 경

우 가장 큰 미백효과를 보였으며 oxyresveratrol-3-O-glucoside 그리고 mulberroside A의 순으로 효과가 있음이 보고 되었다(3).

사람의 피부와 직접 접촉하게 되는 약제나 화장품 성분인 다양한 종류의 화학물질은 피부에 대한 피부 자극성, 접촉성 알러지 자극성 등의 피부 관련 독성 평가가 필요하다. 특히 국소 도포용 소염 진통제 같은 경피로 적용하는 의약품은 홍반, 광민감성, 가려움, 두드러기 등의 부작용이 보고되어 있어 전임상 단계에서 피부관련 부작용의 유무를 충분히 검토하여야 하며 화장품 원료의 경우에도 피부자극성 및 감작성에 대한 충분한 검토가 이루어져야 한다(4-6). 자극성 실험은 Draize 등(7)이 고안한 Draize test가 가장 널리 사용되고 있으며, 약제 및 화장품의 원료 등을 대상으로 guinea pig를 이용하여 자극 유무를 평가한다. 접촉성 알러지의 평가방법으로는 토끼와 guinea pig를 주로 사용하며, Draize method, Guinea pig maximization test(GPMT), Buehler method(8), Local lymph node assay(LLNA)(9) 등이 많이 사용되나 특수한 목적이 없는 경우 일반적으로 최근에 개정된 OECD guideline No.406(1992)에 따른 GPMT가 가장 널리 이용되고 있다. Magnusson과 Kligman은 Freund's complete adjuvant(FCA)를 사용하여 guinea pig에 피부 자극 유발을 촉진하는 guinea pig maximization test(GPMT)법을 도입하였다(10,11). GPMT법은 접촉성 알러지 자극성을 나타내는 물질의 검출율이 좋고, adjuvant를 사용하지 않는 다른 방법에 비해 좋은 결과를 얻을 수 있다고 보고되어 있다(12). 또한 위양성이나 위음성 반응이 적어 guinea pig에 적용한 물질의 약한 접촉 반응을 감지하는데 매우 우수한 시

*Corresponding author: Young-Hee Lim, Department of Biomedical Science, College of Health Science, Korea University, Seoul 136-730, Korea
Tel: 82-2-940-2815
Fax : 82-2-917-2388
E-mail: yhlim@korea.ac.kr
Received January 16, 2012; revised February 13, 2012; accepted February 14, 2012

험범으로 알려져 있다. 피부 감각성 시험의 시험지표로는 guinea pig를 이용한 Organization of Economic Cooperation and Development(OECD)의 가이드라인이 적용되고 있다(13).

본 연구에서는 상백피의 에탄올 추출물로부터 분리 정제한 mulberroside A를 효소전환 하여 당을 제거하여 제조한 배당체 OXY 및 OXY-3를 화장품의 원료로 이용하기 위해 피부 또는 피부질환에 노출된 후 나타날 수 있는 일차 자극성 및 반복적인 노출에 따른 접촉성 알러지 자극성을 식품의약품안전청 “의약품 등의 독성시험기준”에서 제시한 표준화된 시험법인 GPMT를 통해 시험하고 평가하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이

약 420 g의 Hartley계 male white guinea pig를 나라바이오텍(Seoul, Korea)에서 공급받았으며, Bruce 등(14)의 방법에 따라 1주일 동안 주위 환경에 순화시켰다. 동물실험실의 환경은 22±1°C, 습도 50±5%, 조도 150-300 lux, 조명주기 12시간씩 밤낮을 유지하였고, 실험 전 기간 동안 사료와 정수된 물을 자유롭게 공급하였다. 본 연구에서의 모든 동물 실험은 고려대학교 동물실험 연구윤리위원회의 승인(승인 번호: KUIACUC-2011-146)하에 수행되었다.

재료 및 시약

Oxyresveratrol과 Oxyresveratrol-3-O-glucoside는 상백피 유래 에탄올 추출물로부터 분리 정제한 mulberroside A에 Pectinex®(Novozyme, Bagsvaerd, Denmark)를 처리하여 효소 전환 후 정제하여 사용하였다(2). 양성대조군으로 사용한 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)과 면역증강 물질인 Freund's complete adjuvant(FCA)는 Sigma(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. 용매로 사용한 propyleneglycol은 SHOWA(Tokyo, Japan)로부터, 동물사료는 Purina(Seoul, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 감각시험에 사용한 주사기는 0.3 mL Ultra-Fine™II(BD, Franklin Lakes, NJ, USA)를, 폐색칩포를 위한 패치는 Tegaderm TM Film(3M, St. Paul, MN, USA)을 사용하였다.

1차 피부 자극시험

각 군당 6마리의 guinea pig를 사용하였고, 피부자극시험 시작 24시간 전에 clipper와 전기면도기를 이용하여 제모 하였다. 제모에 의한 피부자극을 안정화 한 후, guinea pig의 등에 척추를 중심으로 양쪽으로 2 cm×2 cm의 크기로 약 1 cm의 간격을 두고 표시하였다. 오른쪽 부위를 주사기바늘을 이용하여 대각선 방향으로 각질층만 손상이 되고 진피는 손상되지 않으며 피가 나지 않

Table 2. Primary irritation index (P.I.I) according to Draize method

| Classification | P.I.I |
|----------------------------|---------|
| Practically non-irritation | 0.0-0.5 |
| Slight irritation | 0.6-2.0 |
| Moderate irritation | 2.1-5.0 |
| Severe irritation | 5.1-8.0 |

을 정도의 찰과상을 내었다. 음성대조군(ethanol:propyleneglycol(1:9, v/v)), 1% OXY, 5% OXY, 1% OXY-3를 ethanol:propyleneglycol((1:9), v/v)에 녹여 각각 왼쪽과 오른쪽 구획에 0.5 mL씩 골고루 도포하였다. 시험 부위 전체를 3겹의 거즈로 덮고, 탄력봉대로 감싼 다음 3M 종이테이프를 고정시켰다. 시험 물질 도포 24시간 후 거즈를 제거하고 피부에 영향을 미치지 않도록 잔류 시험물질을 미온수로 깨끗이 씻어내었다. 실험기간 동안 매일 오후 1시에 도포하고, 다음날 관찰하였다. 시험 물질 도포 부위를 세정한 후 24시간 및 72시간 후에 피부 반응을 의약품 등의 독성 시험 지침상의 피부반응 평가표(Table 1)에 따라 평가하여 (식품의약품안전청 2006, 제 1999-61호), 피부 1차 자극지수(primary irritation index, P.I.I, Table 2)를 참고하여 홍반, 가피 및 부종 형성을 관찰하여 자극성을 판정하였다(15,16).

피부감각시험

각 군당 5마리씩을 이용하였으며, GPMT법으로 평가하였다. 시험과정은 감각단계와 반응유도단계로 시험물질을 도포하였으며, 감각은 피내주사(intradermal injection)와 국소도포(topical application)로 나누어 시행하였다. 음성 대조군은 생리식염수를, 양성대조군은 0.1% DNCB를, 시험물질은 1% OXY, 5% OXY, 1% OXY-3를 사용하였으며, 감각 유발 물질로는 Freund's complete adjuvant를 사용하였다. 1차 감각노출을 위해 제모한 guinea pig의 등 피부(2 cm×4 cm)에 각각의 시료를 좌우 대칭으로 0.1 mL씩 피내주사 하였다(Fig. 1). 2차 감각은 1차 감각 7일 후 시험물질을 피내주사했던 부위 위에 시험물질을 filter paper에 적서 patch를 이용하여 48시간 동안 폐색 칩포 하여 감각 시켰다. 2차 감각 2주 후에 guinea pig의 왼쪽 측복부를 4 cm×4 cm의 면적으로 제모한 뒤, 2 cm×2 cm의 filter paper에 각각의 시험물질을 적서 patch로 고정하여 24시간 동안 감각을 야기(challenge)하였다. 감각 유도 후 24시간 및 48시간 후에 피부감각반응 평가표(Table 3)에 따라 홍반 및 부종 여부와 그 정도를 평가하고 피부감각 등급(Table 4)에 따라 판정하였다. 각 군에서 반응을 보이는 개체에 대한 양성반응의 비(%)는 (양성동물수/전체동물수)×100으로 나타내었다(17).

Table 1. Evaluation of skin irritation of erythema and edema

| Skin reaction | | Score |
|---|---|-------|
| Erythema and eschar formation | Edema | |
| No erythema | No edema | 0 |
| Very-slight erythema | Very slight edema | 1 |
| Well-defined erythema | Slight edema (edge of area well defined by definite raising) | 2 |
| Moderate to severe erythema | Moderate edema (raised approximately 1mm) | 3 |
| Severe erythema (beet redness) to slight eschar formation | Severe edema (raised more than 1mm and extending beyond the area of exposure) | 4 |

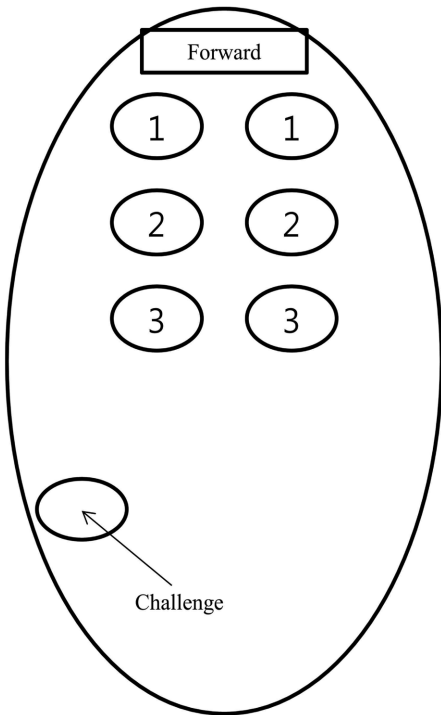


Fig. 1. The area of induction of skin sensitization in guinea pig. 1, intradermal injection of 0.1 mL saline and Freund's complete adjuvant emulsion (1:1); 2, intradermal injection of 0.1 mL test sample; 3, intradermal injection of 0.1 mL sample and Freund's complete adjuvant emulsion (1:1). Following the induction period, challenge was carried out with the test sample.

결과 및 고찰

1차 피부 자극시험

시험물질을 처리한 그룹의 동물에서 폐사율 및 기타 임상증상을 관찰한 결과 시험 전기간을 통하여 폐사한 동물은 발견되지 않았고 어떠한 증상도 관찰되지 않았다. 사료섭취 및 체중도 시료투여전과 비교하여 유의한 차이를 나타내지 않았다. 양성대조 물질을 투여한 그룹에서는 뚜렷한 홍반과 부종이 관찰되었으나, 다른 임상 증상은 관찰되지 않았다.

Guinea pig의 찰과와 비찰과 피부가 시료에 노출 된 후 나타날 수 있는 피부자극성을 평가하기 위한 실험에서 시료 적용 부위의 관찰은 시료 적용 후 24시간 및 72시간 후에 피부자극성을 검사하고, 피부반응 평가표에 따라 점수를 산출하였다. 정상피부 및 1% 시료를 처리한 찰과 부위에서는 홍반 및 가피, 부종이 전혀 형성되지 않아 관찰 결과로부터 산출한 P.I.I 수치가 0으로 비자극성의 결과를 보였다(Table 5). 음성대조군으로 사용된 ethanol-propyleneglycol(1:9) mixture를 도포한 찰과 부위 한 곳에서 육안으로 겨우 식별할 정도의 아주 가벼운 홍반이 관찰되었는데, 이는 찰과 부위에 고농도의 에탄올이 직접 접촉됨으로써 야기된 것으로 보인다. 음성대조군에 의한 피부자극성은 1차 피부자극지수(P.I.I)가 0.08로 확인되었다. 5% OXY를 도포한 찰과 부위 한 곳에서 육안으로 겨우 식별할 정도의 아주 가벼운 홍반 및 가피가 형성되었지만, 일시적인 현상으로 24시간 이후에는 상처가 거의 회복되어 홍반 및 가피가 소멸되었다. 따라서 5% OXY의 P.I.I는 0.04로 매우 낮은 수준을 보여 피부자극성 평가표에 따라 P.I.I 0.5 이하에 해당하는 비자극성으로 판정되었다.

Table 3. Score of sensitization

| Erythema reaction state | Edema formation | Score |
|----------------------------|-----------------|-------|
| No reaction | No edema | 0 |
| Scattered mild redness | Slight edema | 1 |
| Moderate & diffuse redness | Moderate edema | 2 |
| Intense redness & swelling | Severe edema | 3 |

Table 4. Rate and grade of skin sensitization

| Rate (%) | Grade | Classification |
|----------|-------|----------------|
| 0-8 | I | weak |
| 9-28 | II | mild |
| 29-64 | III | moderate |
| 65-80 | IV | strong |
| 81-100 | V | extreme |

피부 감작 실험

시험물질을 야기 처리한 후 24시간 후에 시험물질을 제거 하고 시험부위를 관찰한 결과는 1% OXY, 5% OXY, 1% OXY-3를 처리한 군에서 발적, 홍반, 부종 등이 전혀 관찰되지 않았고, 반응의 빈도도 0%로 나타나 피부 감작 반응평가표에 따라 grade I으로 판정되었다(Table 6). 시료물질들의 피부 감작정도를 측정 한 결과는 24시간 후 1% OXY, 5% OXY, 1% OXY-3를 처리한 군에서 발적, 홍반, 부종 등이 전혀 관찰되지 않았으며 지연반응을 보기 위해 48시간 후에 관찰한 결과도 동일하게 피부 감작성은 관찰되지 않아 grade I으로 평가되었다. DNCB를 처리한 양성 대조군에서는 24시간 후의 관찰 결과를 보면 5마리 중 자극지수 3 및 자극지수 2의 반응을 보인 동물이 각각 3마리 및 2마리로 평균반응 2.6의 100% 매우 심한 홍반과 부종 등의 증상이 관찰되었으며 (Fig. 2A), 48시간 후에는 5마리 모두 자극지수 2의 반응을 보이며 평균반응 2.0 정도의 증상이 유지되어 grade V로 평가되었다(Fig. 2B).

상백피 유래의 stilbene계 물질을 화장품의 원료로 사용하기 위해 부작용 발생 여부를 검토하기 위해 피부자극성을 검토한 결과 1% 이하의 농도를 사용할 경우 비자극성이었으며, 5% OXY의 경우에도 1% 사용시와 비교시 피부자극성이 거의 상승하지 않는 결과를 보였다. 피부 감작성을 시험하기 위해 사용한 GPMT에 대한 결과의 평가에 있어서는 양적평가(quantitative assessment)와 질적평가(qualitative assessment)로 나눌 수 있다. 양적평가는 Draize에 의하여 작성된 기준에 따라 각 개체에서 나타나는 병변의 정도를 0에서 3까지로 등급을 평가한 결과로 guinea pig에서의 시험결과와 사람에서의 반응에 대한 근거를 제시해 줄 수 있다. 질적 평가는 시험동물에서 양성반응을 나타낸 개체수를 백분율로 나타내는 방법으로 Draize에 의해 작성된 기준(Table 4)에 따라 등급을 정하며 실험동물 중에서 어느 한 개체라도 반응의 강도와 관계없이 양성반응이 나타나면 그 물질이 알려지 유발능을 가지고 있는 것으로 간주한다. 시험동물에서 시험물질에 의한 자극을 나타낸 개체수가 아무리 적더라도 물질이 생산된 후 사람에 노출되는 수는 막대하여 상당한 수의 사람들이 손상을 입을 수도 있기 때문에 GPMT에 있어 양적평가 보다는 질적평가에 더 큰 의미를 부여할 수 있다. 본 연구에서 GPMT를 이용한 실험 결과 양성반응 물질로 사용한 1% DNCB 처리군에서는 시험동물군에서 100% 알려지를 유발한 반면 시료 처리군에서는 양적평가 뿐만 아니라 질적평가에서도 양성반응을 보이지 않았다. 따라서 시험농도 범위 내에서는 OXY 및 OXY-3 모두 알려지를

Table 5. Results of skin reaction in male guinea pigs by oxyresveratrol and oxyresveratrol-3-O-glucoside

| Skin area | Animal No. | Intact | | Abraded | | Total score | P.I.I ¹⁾ | |
|--------------------------------|------------|--------|------|---------|------|-------------|---------------------|------|
| | | 24 h | 72 h | 24 h | 72 h | | | |
| Negative control ²⁾ | Erythema | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0.08 |
| | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | Edema | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 1% OXY | Erythema | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | Edema | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 5% OXY | Erythema | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.04 |
| | | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | Edema | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 1% OXY-3 | Erythema | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | Edema | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |

¹⁾P.I.I: primary irritation index²⁾Ethanol-propyleneglycol (1:9) mixture

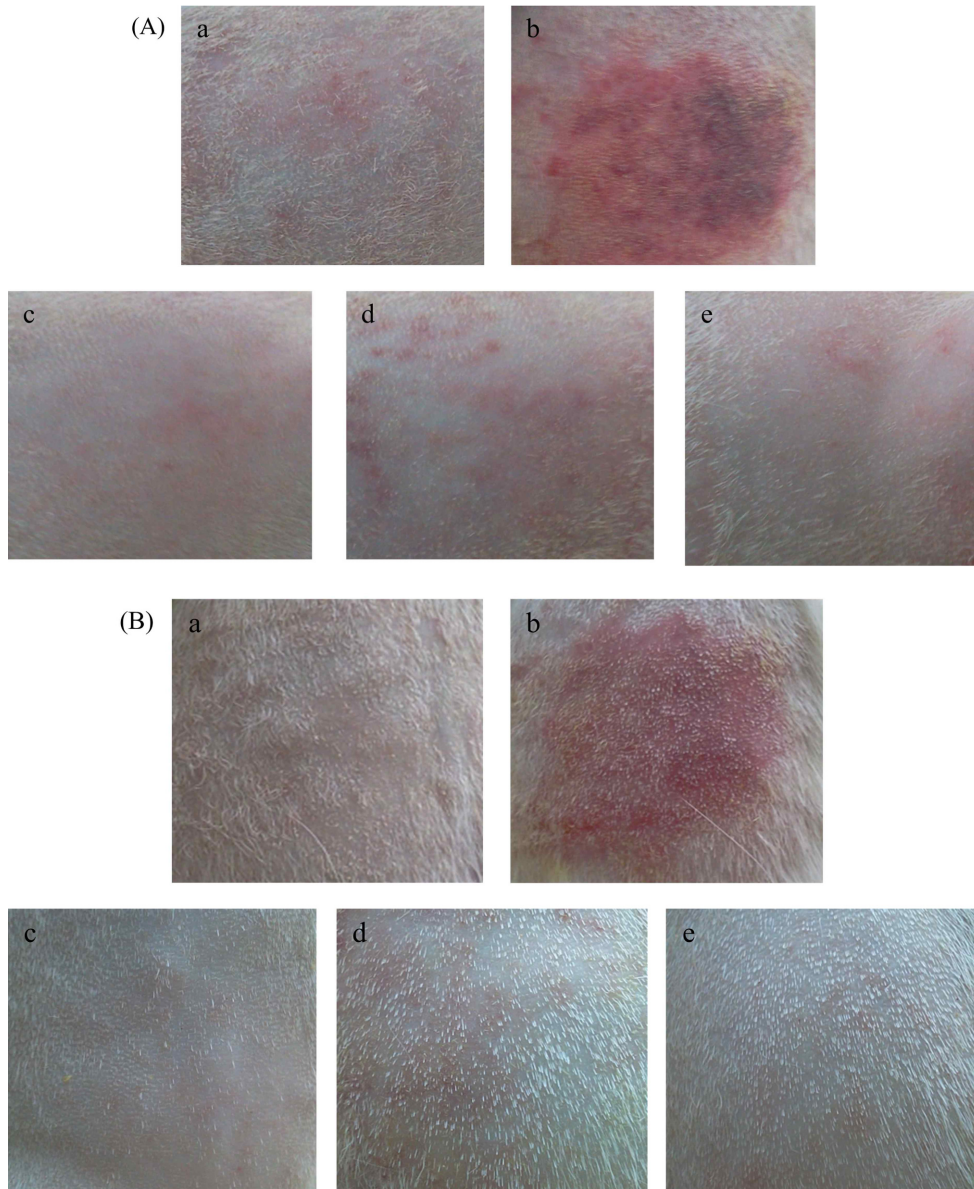


Fig. 2. Representative area of skin maximization test after 24 h (A) and 48 h (B) of treatment with saline (negative control, a), 0.1% DNCB (positive control, b), 1% OXY (c), 5% OXY (d), and 1% OXY-3 (e).

유발하지 않는 것으로 나타났다. 실제로 화장품의 원료로 사용될 경우는 1% 미만의 농도로 사용되므로 알러지 유발능이 거의 없을 것으로 사료되나 GPMT를 이용한 동물실험에서 음성이 나타난 경우라도 실제 임상에서 contact dermatitis, photosensitivity 등의 부작용의 사례가 수 차례 보고되어 있으므로 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다(4,18).

요 약

상백피 추출물의 연구결과로는 항산화효과, 미백, 주름개선 등의 효과가 있는 것으로 확인되었으나 화장품원료로 사용하기 위한 피부자극, 감작연구는 이루어지지 않은 상태이다. 본 연구에서는 guinea pig를 이용하여 피부 자극시험을 평가한 결과 OXY 및 OXY-3 처리군 모두에서 P.I.I 수치 0.5 이하에 해당하는 비자극성으로 판정되었다. 또한 GPMT법을 이용한 피부감작 시험 평

가 결과 OXY 및 OXY-3 처리군 모두에서 발적, 홍반, 부종 등이 전혀 관찰되지 않았고, 반응의 빈도도 0%로 나타나 알러지 유발능이 없는 것으로 판명되었다. 결론적으로, 본 시험조건하에서 guinea pig에 대한 상백피 유래 미백성분들은 1% 이하의 농도에서 사용시 무자극성이며 면역반응에 의한 감작성 부작용을 유발하지 않는 것으로 판단되므로 1% 이하의 시료 물질을 화장품 원료 등에 적용시 약물에 의한 피부 자극성 및 면역반응에 의한 피부 감작성 부작용이 나타날 가능성은 비교적 낮을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부의 지원(20080563)에 의해 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

Table 6. Skin sensitization scores on contact allergenicity test of oxyresveratrol and oxyresveratrol-3-O-glucoside by guinea pig maximization test

| Treatment | Animal No. | Sensitization score (%) | | Sensitization rate (%) | | Grade (classification) | |
|-----------|------------|-------------------------|------|------------------------|-------|------------------------|------|
| | | 24 h | 48 h | 24 h | 48 h | 24 h | 48 h |
| Saline | 1 | 0 | 0 | | | | |
| | 2 | 0 | 0 | | | | |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | I | I |
| | 4 | 0 | 0 | (0/5) | (0/5) | | |
| | 5 | 0 | 0 | | | | |
| 0.1% DNCB | 1 | 3 | 2 | | | | |
| | 2 | 3 | 2 | | | | |
| | 3 | 3 | 2 | 100 | 100 | V | V |
| | 4 | 2 | 2 | (5/5) | (5/5) | | |
| | 5 | 2 | 2 | | | | |
| 1% OXY | 1 | 0 | 0 | | | | |
| | 2 | 0 | 0 | | | | |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | I | I |
| | 4 | 0 | 0 | (0/5) | (0/5) | | |
| | 5 | 0 | 0 | | | | |
| 5% OXY | 1 | 0 | 0 | | | | |
| | 2 | 0 | 0 | | | | |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | I | I |
| | 4 | 0 | 0 | (0/5) | (0/5) | | |
| | 5 | 0 | 0 | | | | |
| 1% OXY-3 | 1 | 0 | 0 | | | | |
| | 2 | 0 | 0 | | | | |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | I | I |
| | 4 | 0 | 0 | (0/5) | (0/5) | | |
| | 5 | 0 | 0 | | | | |

문 헌

- Peter L, Sanjoy R, Mario E, Gerald W, Thomas FW. Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: Effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells. *J. Nitric Oxide* 9: 64-76 (2003)
- Kim JK, Kim M, Cho SG, Kim MK, Kim SW, Lim YH. Biotransformation of mulberroside A from *Morus alba* results in enhancement of tyrosinase inhibition. *J. Ind. Microbiol. Biot.* 37: 631-637 (2010)
- Park KT, Kim JK, Hwang DH, Yoo YM, Lim YH. Inhibitory effect of mulberroside A and its derivatives on melanogenesis induced by ultraviolet B irradiation. *J. Food Chem. Toxicol.* 49: 3038-3045 (2011)
- Pigatto PD, Mozzanica N, Bigardi A, Legori A, Valsecchi R, Cusano F, Tosti A, Guarrera M, Balato N, Sertoli A. Topical NSAID allergic contact dermatitis Italian experience. *Contact Dermatitis* 28: 39-41 (1993)
- Takeshi H, Junko O, Kazuno K, Zenro I. Piroxicam has at least two epitopes for contact photoallergy. *J. Dermatol. Sci.* 6: 219-224 (1993)
- Chlud K. Percutaneous therapy of painful arthritis. *Ther. Umsch.* 48: 42-45 (1991)
- Draize JH, Woodard G, Calvery HO. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 82: 377-390 (1944)
- Buehler EV. Occlusive patch method for skin sensitization in guinea pigs: The Buehle method. *Food Chem. Toxicol.* 32: 97-101 (1994)
- NIH. The Murine Local Lymph Node Assay. NIH Publication No. 99-4494 National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA (1999)
- Magnusson B, Kligman AM. The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test. *J. Invest. Dermatol.* 52: 268-276 (1969)
- KFDA. Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals ICH Guideline. Korea Food and Drug Administration, Cheongwon, Korea. p. 116 (2006)
- Marzulli F, Maguire HC. Usefulness and limitation of various guinea pig test methods in detecting human skin sensitizer-validation of guinea pig tests for skin hypersensitivity. *Food Chem. Toxicol.* 20: 67-74 (1982)
- Basketter DA, Selbie E, Scholes EW, Lees D, Kimber I, Botham PA. Results with OECD recommended positive control sensitizers in the maximization, Buehler and local lymph node assays. *Food Chem. Toxicol.* 31: 63-67 (1993)
- Bruce M, Lawrence J, Mordan, Harry LR, Edward EW, William LE. Treatment of severe atopic dermatitis by topical immune modulation using dinitrochlorobenzene. *J. Am. Acad. Dermatol.* 42: 687-689 (2000)
- Kimber I, Basketter DA, Berthold K, Butler M, Garrigue JL, LEA L, Newsome C, Roggeband R, Steiling W, Stropp G, Waterman S, Wiemann C. Skin sensitization testing in potency and risk assessment. *J. Toxicol. Sci.* 59: 198-208 (2001)
- Qingjun W, Koichi H, Shoko O, Keiko M, Changnian W, Atsushi U. Toxicity study of the volatile constituents of Myoga utilizing acute dermal irritation assays and the guinea pig maximization test. *J. Occup. Health* 48: 480-486 (2006)
- Andersen KE, Volund A, Frankild S. The guinea pig maximization test: with a multiple dose design. *Acta Derm.-Venereol.* 75: 463-469 (1995)
- Lee BS, Choi YG, Son WC, Jung KM, Kim JJ, Kim BH. Keto-profen: Experimental overview of dermal toxicity. *Arch. Toxicol.* 81: 743-748 (2007)