

ORIGINAL ARTICLE

산여뀌 추출물의 피부자극, 안점막 자극 및 피부감작성에 대한 위해성 평가

양응석¹⁾ · 박진식²⁾ · 이재용²⁾ · 황철원*

한동대학교 글로벌리더십학부, ¹⁾바이오코젠(주), ²⁾경운대학교 보건바이오학부

Risk Assessment of *Persicaria nepalensis* Extract by Skin Irritation, Ocular Irritation, and Maximization Tests for Delayed Hypersensitivity

Woong-Suk Yang¹⁾, Jin-Sik Park²⁾, Jae-Yong Lee²⁾, Cher-Won Hwang*

Global Leadship School, Handong Global University, Pohang 37554, Korea

¹⁾Biokogen Co., Ltd., Pohang 37668, Korea

²⁾Department of Healthcare and Biotechnology, Kyungwoon University, Gumi 39160, Korea

Abstract

In this study, we evaluated the potential of 70% ethanol extract from *Persicaria nepalensis* (PNE) as a cosmetic ingredient by primary skin irritation, ocular irritation, and maximization tests for delayed hypersensitivity in New Zealand white rabbits and Hartley guinea pig. Skin safety study was performed to evaluate the potential toxicity of PNE using the primary irritation test. In the primary irritation test, 50% PNE was applied to the skin, and no adverse reactions such as erythema and edema were observed at the intact skin sites. Therefore, PNE was classified as a practically non-irritating material based on a primary irritation index of "0.0.". In the ocular irritation test, the 50% PNE applied did not show any adverse reactions in the different parts of rabbit eyes, including the cornea, iris, and conjunctiva. Thus, PNE was classified as a practically non-irritating material based on an acute ocular irritation index of "0.0.". Skin sensitization was tested by the Guinea Pig Maximization Test (GPMT) and Freund's Complete Adjuvant (FCA) using an intradermal injection of 10% PNE. Edema and erythema were not observed 24 and 48 h after the topical application of PNE in skin sensitization test, which exhibited a sensitization score of "0.0.". Therefore, it can be suggested that *P. nepalensis* could be used as potential candidates for cosmoceutical ingredients, without any major side effects.

Key words : *Persicaria nepalensis*, Primary skin irritation, Ocular irritation, Maximization test for delayed hypersensitivity

1. 서론

인체의 약 16%를 차지하고 있는 피부는 온도, 습도 및 자외선 등과 같은 외부적 환경적 요인들로부터 인체를 보호하는 중요한 역할을 담당하고 있는 조직이

다. 그러나 나이가 들어감에 따라 각종 오염물질, 강한 자외선, 스트레스 및 영양결핍 등으로 인해 피부 세포들이 손상을 입게 되고, 세포 증식이 원활하게 되지 않아 피부에 주름, 탄력 손실 및 각질화 등이 발생한다 (Gilchrest, 1989). 이러한 환경적 요인에 손상을 받는

Received 18 January, 2017; Revised 31 January, 2017;
Accepted 2 February, 2017

*Corresponding author: Cher-Won Hwang, Global Leadship School, Handong Global University, Pohang 37554, Korea
Phone:+82-54-260-1304
E-mail: chowon@handong.edu

The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.
© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

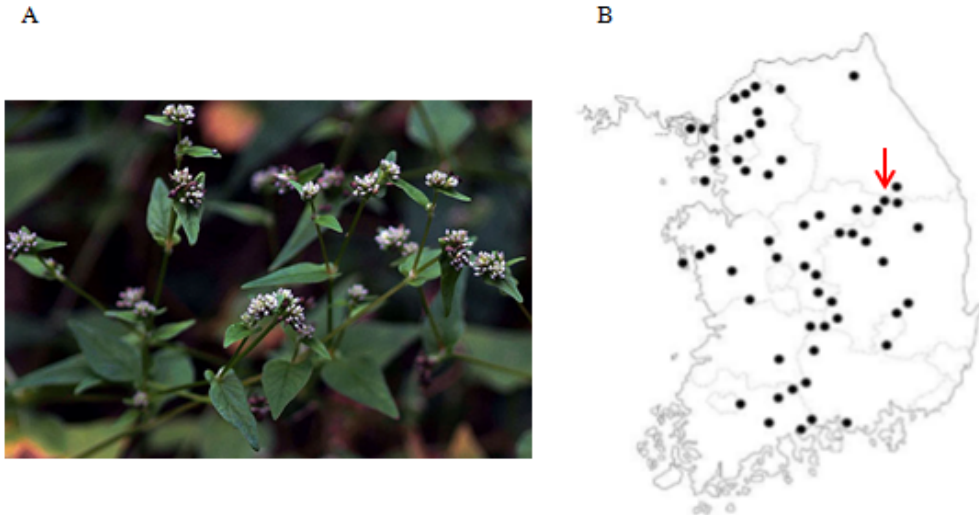


Fig. 1. The distribution of Polygonaceae plants.

The picture of *Perisicaria nepalensis* (A), The *Perisicaria nepalensis* was harvested from the Mountain of Baegun (B) (Jecheon, Chungbuk, red arrow).

피부를 보호하기 위해 일반적으로 가장 많이 사용하는 제품이 화장품이지만, 화장품 성분 중 다양한 화학 성분이 가지고 있는 독성에 의해 피부 손상이 생기므로, 화장품 원료와 원료의 가공에 따른 제품은 피부 자극성, 접촉성 알레르기 자극 등과 같은 피부 관련 독성 평가가 이루어져야 한다(Park et al., 2012). 화장품 원료에 대한 위해성 평가는 급성독성시험자료, 1차 피부 자극시험자료, 안점막자극 또는 기타 점막자극시험자료, 피부감작성시험자료, 인체사용시험자료, 흡입독성시험자료(분무제의 분사원료에 한함), 원료 물질이 자외선 흡수 가능물질은 광독성시험자료 등의 자료를 검토하여 평가하고 있다(Lee et al., 2001).

여뀌(*Persicaria hydropiper*)는 Fig. 1과 같이 마디풀목 마디풀과 여뀌속 여러해살이풀로 국내 전역에 자생하는 식물이다. 본 실험에 사용한 산여뀌(*Persicaria nepalensis*)는 마디풀과(*polygonaceae*), 여뀌속(*persicaria*)에 속하는 일년생 초본으로 충북 제천시 백운산 (N 37°12'53.58", E 127°57'26.62"; red arrow)에서 채집하여 사용하며, 전체에 털이 거의 없고, 마디에 육질로 된 갈고리 모양의 털이 있으며, 8월에 붉은빛을 띠는 흰색의 꽃을 피우며, 잎겨드랑이

와 가지 끝에 둥글게 모여 달린 잎 같은 포가 있다(Lee, 1994).

여뀌속에는 44종이 있으며, 여뀌속에 대한 연구는 아직까지도 미흡한 실정이며, 특히 산여뀌에 대한 연구는 없는 실정이다. 최근 여뀌(*P. hydropiper* L.)에 대한 연구는 여뀌(*Persicaria japonica*) 추출물의 항산화, 항노화와 항균에 관한 연구가 보고되고 있으며, 특히 항산화에 관여하는 flavonoids 성분 규명이 보고되고 있다(Zhao, 2003; Kim et al., 2009; Kim et al., 2010a, 2010b). 이러한 flavonoids는 여뀌의 항균작용 및 지혈작용(Zhao, 2003), 항산화 활성과 지질과산화 억제 작용을 하는 것으로 보고되어 있다(Haraguchi et al., 1996). 여뀌의 주요 성분으로는 quercetin-3-O-β-L-rhamnoside (quercitrin), kaempferol-3-glucoside, 6-hydroxyl-apigenin, galloyl kaempferol-3-glucoside, scutillarein, 6-hydroxyluteolin, 6-hydroxyluteolin-7-O-β-D-glucopyranoside, quercetin-3-O-β-D-glucuronide, galloyl quercetin, quercetin 등이 함유된 것으로 보고되었다(Zhao, 2003). 또한 털여뀌 추출물의 급여가 자연발증 고혈압 쥐의 혈압에 미치는 영향에 대한 연구가 보고되어 있으나(Yun et al., 2003), 화장품 소재로

산여귀 추출물을 이용하여 피부와 관련된 피부 독성에 관한 연구는 아직 보고되어 있지 않고, 자연에서 추출한 자연친화적 화장품 소재에 대한 연구는 원료의 화학적 성분으로 부터 안전하고 인체에 유익한 천연물 중심으로 연구가 되고 있다(Kim, 2007).

따라서 본 연구는 국내에 자생하는 산여귀에 대한 기초 자료 확보를 구축하고, 자연친화적 화장품 소재로 응용하기 위한 기초실험으로서 위해성에 대해 검증하고자 하며, 이를 위해 자연친화적 화장품 원료에 있어 가장 중요한 부분으로서 피부에 대한 안전성을 확인 및 검증하기 위한 방법으로서 토끼와 Guinea pig을 이용한 1차 피부자극성, 안점막자극과 피부감작성 시험과 같은 피부 안전성 시험을 실시하여 환경친화적 원료의 위해성을 평가하고자 한다.

2. 실험방법

2.1. 실험재료

실험에 사용한 산여귀는 2009년 충북 제천 백운산에서 채집하여 풍건 및 분쇄하여 실험에 사용하였다. 산여귀 추출은 상온에서 70% 에탄올을 이용하여 18시간 동안 교반 추출한 후 Filter paper No. 2로 여과한 다음 여액은 rotary evaporator (N-1000, EYELA, Japan)를 이용하여 40 ± 5°C 범위 내에서 감압 농축 및 동결건조 후 갈색의 powder를 얻어 -80°C에 보관하면서 본 실험의 재료로 사용하였다.

2.2. 실험동물

본 시험에 사용한 동물은 수컷 토끼(New Zealand

rabbits)와 암컷 기니피그(Hartly guinea pig)을 중앙실험동물(Central Lab. animal Inc., Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 1차 피부자극성 시험과 안점막 자극 시험에는 토끼, 피부감작성 시험에는 기니피그를 이용하여 산여귀 추출물의 피부 안전성을 평가하였다. 물과 사료는 자유급식 하였으며 온도 23 ± 2°C, 습도 55 ± 10%, 명암주기는 12시간으로 자동 유지되도록 하였다. 본 실험은 한국 기계전기전자 시험연구원 동물실험윤리위원회 승인을 받아 실험동물 관리 및 이용에 관한 지침(Guide for the care and use of laboratory animals, NRC, 2011)에 따라 실시하였다.

2.3. 1차 피부자극성 시험

산여귀 추출물의 피부에 대한 자극성을 평가하기 위하여 토끼를 이용하여 1차 피부자극성시험은 Draize 방법으로 실시하였다(Draize et al., 1994). 1차 피부자극성 시험을 위하여 적용 24시간 전 토끼의 등 부위를 제모하고, 4개소(2.5 cm×2.5 cm) 가운데 2개소에 26 G, 1회용 주사침을 사용하여 진피에 손상 및 출혈을 일으키지 않게 각질층만을 파괴하도록 찔과상을 만들어 시험하였다. 시험물질은 화장품 사용 예정량의 10배인 10% 농도(weight/volume)로 희석하여 사용하였으며, 희석에 사용된 멸균증류수를 대조물질로 하였다. 동물 당 찔과 부위 2개소와 비찔과 부위 2개소를 비교 대상으로 설정하였으며, 좌측의 찔과 부위 1개소와 비찔과 부위 1개소에 각각 0.5 ml씩 1회 도포하였고, 우측의 대조부위에는 희석에 사용된 멸균 증류수를 대조물질로 사용하여 도포하였다. 다음 단계로서 시험부위와 대조 부위에 거즈를 사용하여

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 raising)	2
Moderate to severe erythema	Moderate edema (raised approximately 1 mm)	3
Sever erythema (beet redness) to slight eschar formation	Sever edema (raised more than 1 mm and extending beyond the area of exposure)	4

Table 2. Primary irritation index (P.I.I.)

P.I.I.	Classification
0.0 ~ 0.5	Practically none irritant
0.6 ~ 2.0	Slight irritant
2.1 ~ 5.0	Moderate irritant
5.1 ~ 8.0	Severe irritant

뎠고, 비자극성 테이프를 이용하여 고정하고 24시간 동안 노출시켰다. 시험물질 적용 후 72시간까지 임상 증상 및 사망동물의 유무 등에 관하여 매일 관찰하였으며, 시험물질 적용 직전 및 72시간째에 개별 체중을 측정하였다. 적용부위는 시험물질 도포 종료 후 적용 부위의 패치를 제거하여 1, 24, 48 및 72시간에 따라, 홍반 및 부종 등의 자극성 유무를 관찰 한 후, 피부 자극반응 평가표 Table 1에 따라 평가하여 피부 1차 자극지수(Primary Irritation Index, P.I.I.)를 산출하여 자극성을 Table 2에 따라 평가하였다(KFDA, 2009).

2.4. 안점막 자극 시험

산여끼 추출물의 안점막 자극성을 평가하기 위하여 급성 안점막 자극 시험을 실시하였다. 실험동물은 양안의 각막 등의 손상 여부를 검사 한 결과 이상이 관찰되지 않은 토끼 9마리를 사용하였으며, 멸균증류수를 이용하여 10% 농도(weight/volume)로 시험물질을 희석하여 좌측안구에 시험물질을 0.1 ml 적용 하였으며, 적용 후 시험물질의 누출을 방지하기 위해 약 1초간 양 안점을 잡아 강제 폐안시켰다. 3마리는 시험물질 적용 20 ~ 30초 후 양쪽 눈에 미온 멸균생리식염수 20 ml을 이용하여 1분간 세안하였다. 시험물질 적용

후 7일까지 임상증상 및 체중을 측정하였으며, 시험물질 투여 후 1, 24, 48 및 72시간, 4일, 7일에 각막, 홍채, 결막 등을 관찰하였고, 안자극 평가는 안구병변의 등급 기준에 따라 평가 하였다(KFDA, 2009). 결과에 대한 자극성의 판정은 안구병변의 등급에 따른 각 관찰 시점의 개체별 안자극지수(IOI, individual ocular irritation index)를 산출하였고, 이를 이용하여 각 기별 평균 안자극지수(MOI, mean ocular irritation index)로 하였다(Ballantyne, 1993; KFDA, 2009). 이 결과에서 얻어진 급성안 자극지수를 Table 3에 따라 안점막 자극정도를 평가하였다.

2.5. 피부감작성 시험

피부감작성 시험은 maximization test법(OECD, 1992)으로 실시하였으며, 시험물의 조제는 증류수를 이용하여 induction 시에는 10%, challenge 시에는 2%을 각각 적용하였으며, 양성대조군으로는 20% benzocaine을 사용하였으며, 시험군의 구성은 건강한 암컷 기니피그 22마리를 이용하여 시험하였으며, 검역 및 적용기간 중의 체중을 기초로 하여, 등 부분의 피모상태가 양호한 건강한 동물을 선별한 후, 평균체중이 가능한 균등하도록 시험군, 음성대조군, 양성

Table 3. Ocular irritation score index

Ranges of ocular irritation score	Classification of eye irritability
$0 < A.O.I^{1)} < 10$	Practically none irritant
$10 \leq A.O.I < 20$	Slight irritant
$20 \leq A.O.I < 30$	Moderate irritant
$30 \leq A.O.I \leq 110$	Severe irritant

¹⁾A.O.I : Acute ocular irritation index

Table 4. Score of skin sensitization and maximization grade

Skin reaction		Score
Erythema	Edema	
No erythema	No edema	0
Scattered mild redness	Slight edema	1
Moderate and diffuse erythema	Moderate edema	2
Severe erythema with scar formation	Sever edema	3
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	

대조군으로 구성하였다. 1st Induction (intra-dermal induction, day 1)은 2 x 4 cm 크기로 털을 제거한 견갑내부의 주사부위에 시험물질을 0.1 ml씩 양쪽에 피내주사 한 후 2nd Induction (topical induction, day 8)은 피내 주사 7일째에 동일부위를 제모한 후 10% Sodium Lauryl Sulfate (SLS) 용액을 0.5 ~ 1 g 처리하여 24시간 적용 하고 동일 부위에 시험물질 0.5 ml/site를 적용하여 2 x 4 cm 크기의 거즈로 덮은 뒤 비자극성 테이프로 잘 고정하여 48시간 폐쇄 철폐하였다. 시험군은 10% 산여귀 추출물, 음성대조군에는 용매, 양성대조군에는 20% benzocaine을 적용하였다. Challenge (topical application, day 22)는 국소유도단계 종료 후 14 ± 2일에 오른쪽 옆구리(감작유도 부위를 배제한 부위)에 시험물질을 2 × 2 cm의 패취를 부착하여 24 ± 2시간동안 폐쇄 철폐하였다. 24 ± 2시간이 지난 후에 드레싱과 철폐를 제거한다. 체중 변화는 induction 실시 당일 및 일주일 간격으로 체중을 측정하였으며 challenge 후 3일째인 실험 종료일에 체중을 측정하였으며, 시험물질 적용 철폐 제거 후 24, 48 시간째에 홍반 및 가피형성, 부종 형성 등의 자극에 대하여 피부반응평가를 이용하여 관찰하였다(KFDA, 2009). 또한 결과에 대한 자극성의 정도 판정은 Table 4에 따라 피부감작성을 평가하였다.

2.6. 통계 분석 방법

모든 실험결과는 평균 ± 표준 편차(mean ± S.D)로 산출하였으며, 통계적 분석은 SPSS ver 10.0(SPSS

Inc., IL, USA)을 이용하여 통계 처리하였으며, ANOVA test를 실시하여 그룹간의 통계적 유의수준 $p < 0.05$ 로 정하는 것을 원칙으로 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 산여귀추출물의 1차 피부자극성 시험

산여귀 추출물의 1차 피부자극성 시험 결과 Table 5에 나타난 것과 같이, 1차 자극을 평가하기 위하여 시험물질을 처리한 모든 동물에 있어서 시험물질에 의한 특이한 일반증상과 임상증상이 관찰되지 않았으며, 사망하는 동물도 없었으며, 시험기간 중 모든 동물에서 정상적으로 체중이 증가하였다(data not shown). 시험물질 적용 후 24, 48 및 72시간째에 적용부위의 국소자극성을 관찰한 결과, 시험물질의 적용에 기인한 홍반 및 부종이 관찰되지 않았으며, 상기의 소견을 피부반응평가표에 따라 점수로 산출하였다(KFDA, 2009). 피부 1차 자극지수는 24시간과 72시간째의 점수로 산출하였으며 그 결과, “0.08”로 Draize의 P.I.I.에 따른 평가기준에 따라 분류할 때, Kang et al.(2002)에 의하면 기존 화장품의 기능성 소재로 많이 사용하고 있는 레티놀(2,500 IU) 크림 제형에서도 P.I.I.가 0.875로 보고하였다. 따라서 산여귀 추출물은 P.I.I. 0.08로 기존 보고된 레티놀 함유 크림에 비해 10배 이상의 피부 자극이 감소하였으므로, 산여귀 추출물은 비자극성에 해당하는 것으로 피부자극이 거의 없음을 확인하였다. 대조군과 시험군(PNE)에 대한 2그룹 간

Table 5. Evaluation of skin irritation scores in rabbits following a patch application of *Persicaria nepalensis* ethanol extracts (PNE)

Skin reaction	Score of skin irritation				Mean score ¹⁾	P.I.I. ²⁾	
	h	No. 1	No. 2	No. 3			
Control	Intact skin	Erythema & Eschar	24	0.00	0.00	0.00	0.00
			72	0.00	0.00	0.00	
	Abraded skin	Edema	24	0.00	0.00	0.00	
			72	0.00	0.00	0.00	
PNE	Intact skin	Erythema & Eschar	24	1.00	0.00	0.00	0.08 ⁴⁾
			72	0.00	0.00	0.00	
	Abraded skin	Edema	24	0.00	0.00	0.00	
			72	0.00	0.00	0.00	

¹⁾Mean score = total score / number of animals (3)

²⁾P.I.I. (Primary Irritation Index) = \sum total score / (animal No. x 4)

³⁾Not significantly difference from Control group (p = 0.208)

⁴⁾Not significantly difference from Control group (p = 0.207)

유의한 수준 변화는 없었다.

3.2. 산여뀌추출물의 안점막자극 시험

산여뀌 추출물의 안점막자극 시험 결과를 Table 6에 나타내었으며, 시험물질을 처리한 모든 동물에 있어서 시험물질에 의한 특이한 일반증상과 임상증상이 관찰되지 않았으며, 사망하는 동물도 없었으며, 시험

기간 중 모든 동물에서 정상적으로 체중이 증가하였다(data not shown). 시험물질 적용 후 1, 24, 48 및 72 시간째에 적용 부위의 안구반응을 관찰한 결과, 각막, 홍채, 결막 등에서 병변이 확인되지 않았으며 안반응의 평가표에 따라 안점막자극지수를 산정한 결과, 급성 안점막 자극지수는 “0.0”으로 산정되었다. 따라서

Table 6. Evaluation of ocular irritation scores in rabbits eye balls following application of *persicaria nepalensis* ethanol extracts (PNE)

Group	No.	Time after application				A.O.I. ²⁾	
		1 h	24 h	48 h	72 h		
No eye washing	100401-01	1	0.0	0.0	0.0	0.0	
		2	0.0	0.0	0.0		
	100401-02	1	0.0	0.0	0.0		
		2	0.0	0.0	0.0		
	Total score		0.0	0.0	0.0		0.0
	M.O.I. ¹⁾		0.0	0.0	0.0		0.0
Eye washing	100401-03	1	0.0	0.0	0.0	0.0 ³⁾	
		2	0.0	0.0	0.0		
	Total score		0.0	0.0	0.0		0.0
	M.O.I.		0.0	0.0	0.0		0.0

¹⁾M.O.I. (mean ocular irritation index) = total score / tested animal No, in each observation time

²⁾A.O.I. (Acute ocular irritation index) = Max. among M.O.I.

³⁾Not significantly difference from No eye washing group

Table 7. Evaluation of skin sensitization response in GMPT following application of *Persicaria nepalensis* ethanol extracts (PNE)

Induction material ¹⁾	Challenge material ¹⁾	Sensitization rate ²⁾		Grade		Classification	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Distilled water (Negative control)	Distilled water	0/10 (0%)	0/10 (0%)	I	I	Weak	Weak
10% PNE	2% PNE	0/10 ^{3#)} (0%)	0/10 ^{3#)} (0%)	I	I	Weak	Weak
20% Benzocaine (Positive control)	20% Benzocaine	10/10 ⁴⁾ (100%)	9/10 ⁴⁾ (90%)	V	V	Extreme	Extreme

¹⁾The applied materials were diluted with distilled water

²⁾Number of guinea pigs developing erythema and edema on their abdomens at 24 and 48 hours after application

³⁾Not significantly difference from negative control group

⁴⁾Significantly difference from negative control group (p = 0.001)

^{#)}Not significantly difference from positive control group

산여뀌 추출물은 안점막 자극에 대하여 안전한 물질로 확인 되었으며, 2그룹 간 유의한 수치 변화는 관찰되지 않았다.

3.3. 산여뀌추출물의 피부감작성 시험

피부감작성을 평가하기 위한 시험결과를 Table 7에 나타내었으며, 일반상태 및 사망의 관찰은 시험물질 적용 후, 매일 임상증상과 사망률에 대하여 관찰한 결과 모든 시험동물에 있어서 시험물질에 의한 특이한 일반증상과 임상증상이 관찰되지 않았으며, 사망하는 동물도 관찰되지 않았다(data not shown). 체중 변화는 induction 실시 당일 및 일주일 간격으로 체중을 측정하였으며 challenge 후 3일째인 실험 종료일에 체중을 측정한 결과 시험기간 중 모든 동물에서 정상적으로 체중이 증가하였다(data non shown). 시험물질 노출 종료 후 적용부위를 관찰한 결과, 시험군에서는 시험물질 적용부위 모두에서 24시간째와 48시간째에 감작성 반응이라 판단되는 자극은 관찰되지 않았으며, 음성대조군에서도 관찰기간 모두에서 감작성 반응은 관찰 되지 않았다. 양성대조에서는 24시간째에 감작성 양성율 100%, 48시간째에 감작성 양성율 90%를 나타내어 grade V에 해당하였으나, 산여뀌 추출물은 피부반응평가에서는 무반응으로 “0.0”으로 산정되었으며, 피부 감작성 반응이 관찰되지 않아 grade I에 해당한다.

4. 결론

본 연구는 산여뀌 추출물에 대한 안전성 평가로 1차 피부자극, 안점막자극, 그리고 피부감작성 시험을 실시하였다. 특히, 산여뀌 추출물은 전 항목에 있어 관찰 기간 동안 폐사하는 현상은 관찰되지 않았다. 피부에 대한 자극성 평가는 산여뀌 추출물 50%를 적용한 후 이상 반응, 홍반과 부종이 관찰되지 않았으며, 1차 피부 자극지수는 “0.08”이다. 안점막 자극성을 평가하기 위하여 급성 안점막 자극시험을 실시한 결과 산여뀌 추출물 50%를 적용한 후 이상 반응, 각막, 홍채, 그리고 결막 등의 병변은 확인되지 않았으며, 급성 안점막 자극지수는 “0.0”, 그리고 피부 감작성 유발 가능성을 평가하기 위하여 GPMT (Guinea Pig Maximization Test)를 실시한 결과 실험 전 기간 동안 산여뀌 추출물 10%에서 감작성 반응으로 판단되는 자극이 관찰되지 않았다. 따라서 산여뀌 추출물의 피부반응평가에서는 무반응으로 “0.0”으로 산정되어 피부 감작성 반응이 관찰되지 않는 안전한 등급인 grade I로 무독성 물질로 확인하였다. 이러한 결과 화학 물질로 제조되어 인간의 피부에 영향을 주는 화장품 주원료에 대한 위해성 평가는 대단히 중요한 것으로, 본 연구를 통하여 화장품 원료로서 산여뀌 추출물은 인체 피부에 무해한 것으로 판단되며, 향후 산여뀌에 포함된 다양한 성분 분석과 성분에 따른 위해성 연구를

진행할 것이다.

REFERENCES

- Ballantyne, B., 1993, Ophthalmic toxicology in general & applied toxicology, Stockton Press, New York, 567.
- Draize, J. H., Woodard, G., Calvery, H. O., 1994, 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.
- Gilchrist, B. A., 1989, Skin aging and photoaging : An Overview, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 21(2), 610-613.
- Haraguchi, A., Ohmi, I., Sakai, S., Fukuda, A., 1996, Effect of polygonum hydropiper sulfated flavonoids on lens aldose reductase and related enzymes, *J. Nat. prod.*, 59(4), 443-445.
- Kang, B. C., Lee, N. R., Kwon, E., Kang, C. G., Jeong, H. W., Park, S. Y., Lee, S. K., Lee, K. H., Sung, M. W., Chung, J. H., 2002, Dermal and ocular irritation studies of retinal cream I · II in rabbits, *Laboratory Animal Research*, 18, 177-183.
- Kim, E., 2007, Phytochemicals and beauty food, *Food Sci. Ind.*, 40, 3-8.
- Kim, E. H., Kim, J. E., Park, S. N., 2009, Antioxidative and antiaging effects of *Persicaria hydropiper* L. extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, 35(4), 293-300.
- Kim, J. E., Kim, E. H., Park, S. N., 2010, Antibacterial activity of *persicaria hydropiper* extracts and its application for cosmetic material, *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, 38(1), 112-115.
- Kim, J. E., Kim, E. H., Park, S. N., 2010, Component analysis of *persicaria hydropiper* L. extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, 36(1), 89-92.
- Korea Food and Drug Administration, 2009, Testing, guidelines for safety evaluation of drugs (Notification No.2009-116, issued by the Korea food and drug administration on August 24, 2009).
- Lee, T. B., 1994, Illustrated flora of Korea, Hyangmoonsa Publishing Co., Seoul, 742.
- Lee, E. H., Kim, J. H., Jung, K. M., Jung, H. K., Lee, S. H., Chung, S. Y., Hong, J. T., 2001, Comparison of eye irritation potency with skin irritation and cytotoxicity potency of anti-wrinkle agents, *J. Toxicol. Pub. Health*, 17(2), 143-151.
- OECD, 1992, Skin sensitisation, OECD guideline for the testing of chemicals No. 406, organisation for economic cooperation and development, Paris, <http://www.oecd.org/env/testguidelines>
- Park, K. T., Kim, J. K., Lim, Y. H., 2012, Evaluation on skin irritation and sensitization of oxyresveratrol and oxyresveratrol-3-O-glucoside produced by biotransformation of *Morus alba* extract, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 44(2), 251-256.
- Yun, J. S., Chung, B. H., Kim, N. Y., Seong, N. S., Lee, H. Y., Lee, J. H., Kim, J. D., 2003, Screening of 94 plant species showing ACE inhibitory activity, *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, 11(3), 246-251.
- Zhao, F. P., Dieter, S., Alfred, B., Ramanathan, S., Ngoh, K. G., Tet, F. C., Swee, T. N., Lian, S. C., 2003, Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L., *Phytochemistry*, 62, 219-228.