

## Illite 분제 원액의 육모 활성 시험 및 단회 투여 경구 독성시험

박형섭 · 이종재<sup>1</sup> · 김박광<sup>2</sup> · 임등술 · 정재훈\*

삼육대학교 약학과, <sup>1</sup>삼육간호보건대학 치위생과, <sup>2</sup>서울대학교 약학대학

## Hair-Growth Effect and Single Dose Oral Toxicity Test of Illite Powder

Hyung Sup PARK, Choong Jae LEE<sup>1</sup>, Bak-Kwang KIM<sup>2</sup>, Dong Sool YIM, and Jae Hoon CHEONG

Department of Pharmacy, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea

<sup>1</sup>Department of Dental Hygiene, Sahmyook Nursing and Health College, Seoul 130-711, Korea

<sup>2</sup>College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 152-742, Korea

(Received September 15, 2001; accepted December 10, 2001)

**Abstract** – The hair-growth effect of Illite was suggested by some people who were using Illite as a beautifying material. We investigated the hair-growth effect of Illite powder. The hair-growth effects were investigated by two methods; the activity of hair-growth after shaving the hairs on the black mouse (C57BL/6) and the recovery activity of hair-growth after hair-loss induced by cyclophosphamide treatment. Suspension of Illite powder was applied to the back of the black mouse by method of skin paste. Illite promoted significantly the hair growth of mouse in both conditions of shaving and hair-loss. And then we investigated the toxicity which may be induced by Illite when it was administrated orally as a single dose. We could not find out any significant toxicity induced by single dose oral administration of Illite.

**Key words** □ Illite, Hair-growth, Cyclophosphamide, black mouse (C57BL/6)

Illite[운모  $KAl_4(AlSi_7O_{20})$ ]는 접촉열수변성점토질 광물로서 한국 영동과 캐나다 퀘벡주에서 채취되는 것이 백상광체로서 불순물이 적은 것으로 알려져 있다. 주성분이  $SiO_2$ ,  $Al_2O_3$  및  $K_2O$ 로서 황백색(백색, 적색)의 혼합 광물이다. 상온에서 3~25마이크론 파장의 원적외선을 89~92% 방사하고, 탈취력이 매우 강하며, 수중에서 용존산소량을 증가시키고 양이온 유기질을 흡착하고 음이온(141 ions/cc)을 발산한다. 이러한 작용을 바탕으로 농·축산 분야에서 방충, 성장촉진, 냉해방지, 탈취, 육질개선 및 감염성 질환에 의한 피해방지 등에 활용되어 왔다(Mumpton, 1999).

Illite의 약성을 향약집성방에서는 다음과 같이 소개하고 있다. 맛은 무미고, 성질은 평하며 독이 없고, 피부의 균살 제거, 중풍 치료, 해열 등에 먹거나 피부 접촉하는 방법으로 사용한다. 그 외에, 사기를 없애고 오장을 편안하게 하고, 멀미를 치료하고, 기를 보하고, 신경기능을 강화시키는데 사용할 수 있다고 보고하고 있다. 이상의 작용에 근거하여 Illite를 생활용품의 재료에 적용하였고, 일부에서 피부미용 등의 목적으로 Illite의 현탁액을 목욕 시에 사용하였다. 이를 사용하던 다수의 탈모증 환자들이 발모 및 육모효과를 관찰하게 되었고, 이를 계기함에 따라 본 연구자는 Illite의

육모 및 발모효과를 검색하였다.

현재 Minoxidil 등의 발모제들이 시판되고 있지만 탈모증 환자들이 그 효과에 만족하지 못하는 것이 현실이며, 더 나은 발모제를 찾는 연구들이 활발히 진행되고 있다. 본 연구자도 Chrysin 유도체, Oxim 유도체 및 *Artemisia apiacea* 등의 생약 추출물 등에서 현저한 육모효과를 가진 물질을 찾는 연구에 참여하여 왔다(Jang *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 1999; Shin *et al.*, 1999). 발모효과를 가진 물질을 찾는 연구의 일환으로 Illite의 육모 및 발모효과를 검색하였고, C57BL/6 생쥐에서 Illite 현탁액의 도포에 의해 육모활성과 발모활성이 있는 것으로 판명되었기에 단회 투여 경구 독성 시험을 시행하였다.

### 실험방법

#### 시험물질

본 연구의 시험물질인 Illite는 명진상사로부터 수령받아 사용하였으며 모든 시험물질들은 경구투여의 경우에는 생리 식염수에 현탁시켜 경구 투여하고 피부에 적용하는 경우에는 증류수에 현탁시켜 도포하였다. 정상 대조군에는 증류수를 도포하였고, 경구투여의 경우에는 1%와 10%(w/w) 현탁액을 10 mg/kg 용량으로 투여하였다. 독성시험을 위한 투

\*To whom correspondence should be addressed.

여량은 투여량에 의해 문제가 야기되지 않는 최대량을 예비실험을 통해 다음과 같이 정하였다. 동물을 5개 군으로 분류하여 600 mg/kg, 60 mg/kg, 6 mg/kg, 0.3 mg/kg 및 증류수를 체중 kg당 2 ml용량으로 투여하였다. 도포의 경우에는 10% 및 30%(w/w) 현탁액을 도포하였으며, 양성대조군에는 minoxidil 3% 액(중외제약)을 도포하였다(Shirai et al., 2001; Kvedar and Baden, 1987). 탈모 유발을 위해 cyclophosphamide 5%용액을 도포하였다(Chen et al., 1998; Hussein, 1993).

### 실험동물

대한실험동물에서 공급받은 동일 출생일의 7주령 SPF 음성 C57BL/6 생쥐를 본 대학의 실험동물 사육실의 마이크로베리어시스템(케이지별 GLP 조건 설정 시스템)에서 1주일간 안정화시킨 후 시험물질 적용 24시간 전에 각 개체의 등부위를 약 2×2.5 cm 넓이로 제모기와 제모제(에바크린, 삼공제약)를 사용하여 제모하여 사용하였다. 실험기간 동안 실험동물들은 실내온도 23±2°C, 습도 55±10%, 명암 12시간 주기의 사육환경에서 공기정화 이중 필터가 부착된 폴리카보네이트 사육상자에 10마리씩 사육하고 사료와 물은 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 모든 실험은 오전 10시에 실시하는 것을 원칙으로 하였다.

경구 독성실험을 위해 SPF 암·수 Sprague-Dawley(SD) rat을 대한실험동물에서 공급받아 본 대학의 실험동물 사육실의 마이크로베리어시스템(케이지별 GLP 조건 설정 시스템)에서 1주일간 안정화시킨 후 사용하였다. 실험기간 동안 실험동물들은 실내온도 23±2°C, 습도 55±10%, 명암 12시간 주기의 사육환경에서 공기정화 이중 필터가 부착된 폴리카보네이트 사육상자에 rat은 6마리씩 사육되었다. 사료는 혜은무역에서 공급받아 사용하였고 사료와 물은 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였으며, 약물처치 및 장기 검사 전 12시간 동안은 절식하였다. 모든 약물 투여 실험과 관찰은 오전 10시에서 12시 사이에 실시하였고, 마지막 처사 후 장기 육안 관찰실험은 오전 10시에 시작해서 오후 6시까지 진행되었다.

### 육모효과 실험

제모한 다음 날부터, 경구 투여의 경우에는 매일 오전 10시경에 1회/1일 경구용 주사기를 이용하여 투여하고, 국소 도포하는 경우에는 매일 오전 10시경에 1회/1일 도포하였다. 투여 7일 후부터 21일까지 2일~6일 간격으로 hair growth score(자라난 털 길이 % ÷ 털이 자라나는 면적 %)를 측정함으로써 육모효과를 검정하였다(Kim et al., 1999; Shin et al., 1999). 자라난 털 길이 %는 제모 이전 동일 부위의 털 길이에 대한 제모 후 실험기간 동안 자라난 털 길이의 %로, 털이 자라나는 면적 %는 제모 면적에 대한 제모 후

털이 자라나는 부위의 면적 %를 측정함으로써 판정하였다.

### 발모효과 실험

제모한 다음 날부터 매일 오전 10시경에 1회/1일 5% cyclophosphamide를 도포하고(Shirai et al., 2001), 오후 4시경에 1회/1일 효능 검색 물질을 도포하였다. 투여 7일 후부터 19일까지 2일~4일 간격으로 hair growth score(자라난 털 길이 %×털이 자라나는 면적 %)를 측정함으로써 발모효과를 검정하였다(Kim et al., 1999; Shin et al., 1999). 자라난 털 길이 %는 제모 이전 동일 부위의 털 길이에 대한 제모 후 실험기간 동안 자라난 털 길이의 %로, 털이 자라나는 면적 %는 제모 면적에 대한 제모 후 털이 자라나는 부위의 면적 %를 측정함으로써 판정하였다.

### 단회 투여 경구독성시험

모든 실험동물에 대하여 투여 일에는 투여 후 6시간 동안 매 시간을 기준으로, 투여 익일부터는 1일 1회 1시간 동안 14일간 동물의 일반 상태의 변화, 특별 증상, 사망발현 유무, 음수량 및 사료 섭취량을 관찰하였다(Nakagawa et al., 1988; Dunham et al., 1957).

체중은 모든 실험동물에 대해 시험물질 투여 직전과 투여 후 3일, 6일, 9일 및 12일에 측정하였다.

SD rat에 대해 시험물질 투여 후 14일째 되는 날 25% urethane으로 마취 후 외관 및 내부 장기의 이상 유무를 육안으로 관찰하고, 간, 폐, 비장, 신장 및 심장의 장기무게를 측정하였다.

### 통계처리

본 실험 결과에 대한 유의성 검정은 ANOVA test와 post-hoc test로서 Newman-Keuls 및 unpaired Student's t-test를 이용하여 실시하였다.

## 연구 결과 및 고찰

### 육모 활성

Illite의 육모효과에 대한 결과를 Table I에 정리하였다. Illite를 경구 투여한 경우에는 1%투여군과 10% 투여군 모두에서 hair growth score가 증류수만을 도포한 정상 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 즉, 경구 투여에 의한 육모효과는 없는 것으로 관찰되었다. 반면 Illite를 피부에 도포한 경우에는 전반적으로 정상대조군에 비해 hair growth score가 높은 것으로 나타났으며 30% Illite 도포군에서 가장 높은 것으로 나타났다. 10% Illite도포군의 경우 제모 7일 후, 9일 후 및 15일 후의 hair growth score가 정상 대조군에 비해 유의성있게 높았으며, 30% Illite 도포군의 경우 7일 후, 9일 후, 10일 후, 13일

**Table I.** Hair growth effects of Illite in black mouse (C57BL/6)

Treatment	Hair growth score (recovery ratio of the hair length × recovery ratio of the hairing area × 100)					
	7 days	9 days	10 days	13 days	15 days	21 days
Control	35.8 ± 6.252	37.81 ± 2.13	47.01 ± 4.79	71.98 ± 5.91	83.34 ± 5.44	97.63 ± 2.33
Minoxidil	36.4 ± 1.921	40.18 ± 9.47	51.16 ± 9.21	76.30 ± 5.02	89.60 ± 2.99*	99 ± 0.76
1% PO	31.56 ± 11.24	35.71 ± 12.90	43.74 ± 10.13	67.33 ± 13.37	87.05 ± 5.25	97.71 ± 2.21
10% PO	38.41 ± 9.71	46.23 ± 16.61	54.80 ± 10.22	71.29 ± 7.94	88.39 ± 5.13	98 ± 3.46
10% Pasting	45.45 ± 6.24**	49.34 ± 5.69**	53.90 ± 7.78	74.44 ± 10.75	90.58 ± 4.65**	99.13 ± 1.0
30% Pasting	39.50 ± 2.04**	45.82 ± 5.07**	54.65 ± 3.15**	80.44 ± 7.32*	92.61 ± 5.65**	99.38 ± 0.92

Each value represents the mean ± S.D. of 8 animals. \*indicates a significant difference from control value (\*p<0.05, \*\*p<0.01). The hair growth score was determined by recovery ratio of the hair length and the hairing area. PO: Post Oral; Pasting: Pasting on the back skin.

후 및 15일 후의 hair growth score가 정상대조군에 비해 유의성있게 높은 것으로 나타났다. 즉, 10%와 30% Illite 도포에 의해 육모효과가 발현되는 것으로 나타났고, 10일 이후의 육모효과는 Illite의 농도가 높은 30% 처치군에서 더욱 강하게 발현되었다. Minoxidil 도포군과 Illite 처치군과의 비교에서 통계적 유의성은 없었지만 hair growth score의 평균값이 Illite 도포군에서 전반적으로 높게 나타났을 뿐만 아니라 30% Illite 도포군에서는 21일 관찰군을 제외한 전 영역에서 정상대조군에 비해 유의성있는 차이를 보인 반면 minoxidil 도포군에서는 일부영역에서만 정상대조군에 비해 유의성있는 차이를 나타냈고 개체간의 차이가 심한 것으로 나타났다. Illite 도포에 의한 육모 효과는 현재 도포용 발모제로 시판중인 minoxidil보다 강한 것으로 나타났다.

#### 발모 활성

Illite의 발모효과에 대한 결과를 Table II에 정리하였다. Cyclophosphamide(CP) 도포에 의해 현저한 탈모 효과가 발현되었다. CP는 탈모작용이 심각하게 발현되는 항암제로 알려져 있으며 탈모를 유도하는 실험물질로 사용되고 있다

(Chen *et al.*, 1998). 본 실험의 경우에도 CP도포에 의해 Hair growth score가 증류수만을 도포한 정상 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다. 즉, CP 도포에 의해 탈모효과가 유도됨으로서 탈모 방지 또는 발모효과를 시험할 수 있게 되었다. CP에 의해 탈모가 유도된 동물에 Illite를 피부에 도포한 경우에는 전반적으로 CP 단독 처치군에 비해 Hair growth score가 유의성있게 높은 것으로 나타났으며, 그 효과는 현재 발모제로 시판되고 있는 minoxidil과 유사하였다. 또한 발모효과는 지속적으로 발현되었으나 Illite의 서로 다른 농도 처치군 간의 유의성 있는 효과 차이는 없었다. Illite도포에 의해 발모효과는 발현되었지만 정상동물 수준으로 발모를 유도하지는 못하였다.

#### 단회 투여 경구 독성 시험

##### 증상관찰 및 치사량

투여할 수 있는 최대용량인 원액 투여에서 실험기간동안 사망하는 동물이 없었다. 모든 실험동물에 대하여 투여 일에는 투여 후 6시간 동안 매 시간을 기준으로, 투여일부터는 1일 1회 1시간 동안 14일간 동물의 상태 변화를 관찰

**Table II.** Hair growth effects of Illite in black mouse (C57BL/6)

Treatment	Hair growth score (recovery ratio of the hair length × recovery ratio of the hairing area × 100)				
	7 days	9 days	12 days	15 days	19 days
Control	57 ± 13.31	63 ± 13.27	73.33 ± 13.72	83.67 ± 11.27	96.17 ± 63.76
CP	35 ± 8.44 <sup>†</sup>	37.67 ± 4.97 <sup>‡</sup>	44.17 ± 5.15 <sup>‡</sup>	51.83 ± 4.67 <sup>‡</sup>	57.17 ± 7.63 <sup>‡</sup>
CP + Minoxidil	48.67 ± 10.19*	51.17 ± 10.18*	61.17 ± 10.46**	68.17 ± 6.15**	84.83 ± 4.79**
CP + 2% Illite	51.67 ± 1.86*	54.17 ± 3.37*	61.33 ± 2.16**	66.5 ± 4.37**	78.33 ± 1.21**
CP + 10% Illite	45.67 ± 7.45*	51.17 ± 7.63*	58.83 ± 5.37*	65.5 ± 5.13**	71.67 ± 3.27**
CP + 30% Illite	60.67 ± 6.31*	53.33 ± 6.28*	62.83 ± 5.91**	69.5 ± 7.94**	80.67 ± 7.99**

Each value represents the mean ± S.D. of 6 animals. \*indicates a significant difference from CP value (\*p<0.05, \*\*p<0.01). <sup>†</sup>indicates a significant difference from control value (<sup>†</sup>p<0.05, <sup>‡</sup>p<0.01). The hair growth score was determined by recovery ratio of the hair length and the hairing area. CP: Cyclophosphamide.

한 결과 특별한 이상을 나타내는 경우가 없었다. 음수량 및 사료 섭취량 역시 시험물질의 처치에 의해 정상 대조군에 비해 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다.

#### 체중 변화 측정

시험물질 투여 직전과 투여 후 3일, 6일, 9일 및 12일에 측정된 결과 체중 증가는 시험물질의 처치에 의해 정상 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

#### 부검 및 장기 무게 측정

SD-Rat에 대해 시험물질 투여 후 14일째 되는 날 25% urethane으로 마취 후 외관 및 내부 장기의 이상 유무를 육안으로 관찰한 결과 출혈, 반점, 부종, 비정상적인 조직 생성 등의 이상은 없었다. 간, 폐, 비장 및 신장의 장기무게를 측정된 결과 각 기관들의 무게는 시험물질의 처치에 의해 정상 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

이를 종합해보면 Illite는 도포에 의해 육모효과를 나타내며, 그 육모효과는 10%와 30%의 경우 minoxidil보다 강한 것으로 여겨진다. 또한 Illite는 도포에 의해 발모효과를 나타내며, 그 발모효과는 실험기간 동안 지속적으로 발현되었다. 현재 임상을 제외한 실험실적 방법을 통한 발모효과를 검증하기가 매우 어렵다. 그래서 발모효과가 있는 것으로 추정되는 물질에 대한 효능 검색은 육모효과 검색을 통하여 이루어지고 있다. 본 연구를 통해 항암물질인 cyclophosphamide의 부작용에 의해 발현되는 탈모작용을 이용하여 탈모를 유도하였을 때 Illite의 발모 효과를 검증함으로써 발모효과에 대한 간접적인 증거를 제시하였다. 즉, Illite는 도포용 발모제로서 충분히 개발할 가치가 있는 것으로 여겨진다.

본 연구에서는 Illite 중의 어떠한 성분이 발모효과를 발현하며, 어떠한 작용 기전에 의해 발모효과가 발현되는지는 알 수 없다. 또한 동물 사육과정 중에 육질 개선과 질병 예방을 위해 사료와 함께 동물들에게 복용시켜왔고, 항암집성방 등에서 한약재료로 사용되어왔지만, 사람에게 사용하기 위해서는 안전성에 대한 검증이 필요하다. 동물의 일반 상태의 변화, 특별 증상, 사망발현 유무, 음수량 및 사료 섭취량을 관찰한 결과 특이적인 증상이나, 관찰 항목에 있어서 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다. 즉, 매우 높은 용량인 30%(600 mg/kg body weight) 용량에 의해서도 급성 독성은 없는 것으로 사료된다.

앞으로의 연구를 통하여 안전성에 대한 심도있는 검색이 필요하고, 어떠한 성분에 의해, 어떠한 작용기전을 통해 육

모 또는 발모효과가 발현되는지를 밝혀내야 할 것이다.

#### 참고문헌

- Chen, G., Baechle, A., Nevins, T. D., Oh, S., Harmon, C., and Stacey, D. W. (1998). Protection against cyclophosphamide-induced alopecia and inhibition of mammary tumor growth by topical 1,25-dihydroxyvitamin D3 in mice. *Int. J. Cancer* **75**, 303-309.
- Dunham, N. W., Miya, T. S., and Edwards, C. D. (1957). Pharmacological activity of a series of basic esters mono and dialkyl malonic acid. *J. Am. Pharm. Assoc.* **46**, 208-209
- Hussein, A. M. (1993). Chemotherapy-induced alopecia: new developments. *South Med J.* **86**(12), 1446.
- Jang, J. M., Lee, M. C., Shin, J. S., Cheong, J. H., Kim, Y. B., and Kim, B. K. (2001). Hair-growth effect of Chrysin 7-O-cyclopropanecarboxylate. *J. Appl. Pharmacol.* **9**, 15-19.
- Kang, J. K., Jung, E. Y., and Nam S. Y. (2001). Single dose oral toxicity study of a new hepatotherapeutic agent GODEX(HEPADIF-S) in rats. *J. Appl. Pharmacol.* **9**, 140-142.
- Kim, K. S., Shim, S. H., Jang, J. M., Cheong, J. H., and Kim, B.K. (1999). A study on hair-growth activity of Artemisia apiacea Hance. *Yakhak Hoeji* **43**(6), 798-801.
- Kim, Y. R., Lee, S. H., Kim, K. S., Cheong, C. S., Cheong, J. H., and Kim, B. K. (2000). Properties and Activity Screening of Chromone Derivatives. *Yakhak Hoeji* **44**(2), 107-114.
- Kvedar, J. C. and Baden, H. P. (1987). Topical minoxidil in the treatment of male pattern alopecia. *Pharmacotherapy* **7**(6), 191-197.
- Mumpton, F. A. (1999). La roca magica: Uses of natural zeolites in agriculture and industry. *PNAS* **96**(7), 3463-3470
- Nakagawa, H., Yamamura, M., Kinoshita, K. Kudo, Y., Ochiai, T. Nosaka, K. Narita, H., Yamaguchi, I., and Ishida, R. (1988). General pharmacology of Mafoprazine, a new phenylpiperazine derivative. *應用藥理* **36**, 101-115.
- Park, W. K., Cheon, H. G., Kwon, K. J., Yoon, Y. S., Shin, H. S., and Kong, J. Y. (1997). General pharmacology of SB-31. *J. Appl. Pharmacol.* **5**, 369-375.
- Shin, J. S., Kim, Y. H., Cheong, J. H., Kim, Y. B., and Kim, B. K. (1999). Properties and hair-growth effect of Chrysin 7-O-crotonate. *Yakhak Hoeji* **43**(3), 316-319.
- Shirai, A., Tsunoda, H., Tamaoki, T., and Kamiya, T. (2001). Topical application of cyclosporin A induces rapid-remodeling of damaged anagen hair follicles produced in cyclophosphamide administered mice. *J Dermatol Sci.* **27**(1), 7-13.