

Supplement

기능성화장품의 기능성평가에 관한 연구(I)
-자외선차단화장품의 in vitro시험법 연구

Studies on the evaluation of efficacy of functional cosmetics (I)

- Studies on the in vitro SPF test method of sunscreen products

손경훈, 김영옥, 이정표, 양성준, 백옥진, 김원희, 김종갑, 허문영, 최상숙

기능성화장품의 기능성평가에 관한 연구(I) - 자외선차단화장품의 *in vitro* 시험법 연구

의약품평가부

손경훈, 김영옥, 이정표, 양성준, 백옥진, 김원희, 김종갑**, 허문영***, 최상숙*

국 문 요 약

인체실험(*in vivo*) 방법과의 상관성이 우수한 *in vitro* 자외선차단지수(SPF) 측정방법을 개발하고자 본 연구를 수행하였다. 표준자외선차단제인 8 % homomentyl salicylate(HMS) 제제와 P3 reference standard 제제 및 기능성화장품중 자외선차단화장품을 사용하여 자외선차단지수측정기(SPF 290 analyzer)를 가지고 *in vitro* 자외선차단지수를 측정하고, 인체실험과의 상관계수를 구하였다. 8% HMS 제제 및 P3 Reference standard 제제의 *in vitro* SPF 결과는 식약청고시 2001-64호의 규정과 유사한 결과를 나타내었고, 크림 및 로오손 제형에서는 상관계수 0.9506 및 0.9769로서 인체실험과 높은 상관성을 나타내었다. 메이크업베이스 및 리퀴드파운데이션, 사용시 흔들어 쓰는 로오손, 압축분말은 각각 상관계수 0.8812, 0.8632, 0.5984를 나타내었으며, 압축분말의 도포를 위해서는 크림베이스와 1:0.8의 비율로 섞는 것이 가장 좋은 결과를 나타내었다. 본 실험결과를 통해 사람을 이용한 자외선차단지수 측정방법을 대체할 수 있을 것으로 기대되며, 이 후 자외선차단 화장품의 품질관리에 적용하고, 고시개정의 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

검색어 : 자외선차단지수, SPF, *in vitro*, 자외선차단지수측정기, 상관계수

서 론

환경오염에 의한 오존층의 파괴로 인하여 지표상에 도달하는 자외선의 양이 점차 증가하고 있다. 단기간의 일광노출은 가벼운 피부화상¹⁾이나 색소침착(tanning)²⁾을 일으키는 정도로 그치지 않지만, 누적되는 일광노출에 의한 자외선조사는 피부의 광노화(photoaging)³⁾를 촉진하거나 심한 경우 피부암⁴⁾을 유발할 수 있다. 이러한 자외선의 유해성이 소비자들에게 널리 인식되고 있는 가운데, 자외선에 의한 피해를 예방하기 위하여 각종 자외선차단제를 함유한 화장품이 널리 사용되고 있으며, 이제는 여름철 뿐만 아니라 사계절을 통하여 필수적인 제품으로 인식되고 있다. 화장품에 사용되는 자외선 차단제에는 oxybenzone, octylmethoxycinnamate, octylsalicylate, butyl methoxy dibenzoyl methane 등의 자외선흡수제와, titanium oxide, zinc oxide 등의 자외선산란제가 있다. 이들 성분을 함유한 화장품의 자외선차단정도는 자외선차단지수(sunscreen

* 내용문의 : 최상숙(연락처 02/380/1720)

** 중앙대학교 약학대학

*** 강원대학교 약학대학

protect factor, SPF)로 표시되고 있다. SPF는 사람의 피부에서 직접 광방어 정도를 측정하는 *in vivo* test로서 자외선차단제를 피부에 바른 후의 광조사에 의해 나타나는 최소홍반량 (minimal erythma dose, MED)과 바르지 않은 상태에서 나타나는 최소홍반량의 비로 결정된다⁵⁾. 동 개념은 오스트리아의 Greiter에 의하여 처음 제안되어 미국 FDA에 의하여 채택된 후 세계화장품시장에서 널리 사용되고 있다. SPF를 측정하는 방법은 나라마다 다르며, 미국⁶⁾, 일본⁷⁾, 유럽⁸⁾ 등은 자국의 실정에 맞는 통일화된 방법에 의하여 SPF를 결정하고 있다. 국내에서도 통일된 시험방법이 정립을 위한 연구가 활발하게 진행하였고^{9), 10)}, 그 결과를 바탕으로 식약청 고시 2001-64호에 한국의 SPF 측정방법을 고시하였다¹¹⁾.

in vivo SPF 측정방법은 실험 후 피부에 홍반이 몇 개월간 지속되고, 장시간 동일한 자세를 유지해야 하는 등의 고통이 있어 지원자의 확보가 어렵고, 피부타입의 선정, 최소홍반량의 판정에는 전문적인 지식과 경험이 있어야 객관적인 판정이 가능하고, 장비구입비, 인건비 등의 비용이 많이 소요되는 점을 고려할 때 동 시험법으로 자외선차단제품을 지속적으로 품질관리 하는 것은 현실적으로 많은 어려움 가지고 있다. 따라서 국내 SPF 표기 화장품의 지속적인 품질관리 및 신속한 제품 개발을 위하여는 신속하고, 저비용이면서 *in vivo* 방법과의 상관성이 우수한 *in vitro* 측정방법의 개발이 필수적이다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 기기

가. 표준자외선차단제

8% Homomentyl salicylate 제제(8% HMS), P3 reference standard (3% octyl methoxy cinnamate and 0.5% butyl methoxy dibenzoyl methane 제제) : 식약청고시 2001-64호에 따라 제조

나. 검체

시판화장품중 자외선차단지수가 표기되어 있는 기능성화장품 38종을 사용하였으며 배합되어 있는 자외선차단성분은 Table 1과 같다.

다. 시약

Transpore tape^{TM 12)}(3M, USA), vitro skin^{TM 13)}(IMS, USA), vaseline, white(Wako, Japan), 크림베이스(제조, Table 2)

라. 기기

자외선차단지수 측정기(SPF 290 Analyzer, Optometric Co., USA) : 광원 Xenon Arc Lamp, 측정파장 290 ~ 400 nm

Table 1. Formulas of finished samples (unit : %)

Sample		components								
		UV absorber							UV scatter	
		OMC	BMDM	MBC	OS	BP-3	HS	OT	TO	ZO
cream	1	3.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	5.0	5.0
	3	7.0	-	-	-	-	-	-	2.2	-
	4	7.0	-	-	-	-	-	-	5.6	-
	5	7.5	0.5	-	-	-	-	-	1.7	4.9
	6	7.0	-	2.0	3.0	-	-	-	3.9	2.7
	7	7.5	2.0	-	5.0	3.0	6.5	-	-	-
	8	7.0	2.0	-	-	4.5	-	-	3.3	-
	9	7.0	-	-	-	-	-	-	-	17.0
	10	7.3	0.6	2.5	-	-	-	-	2.2	4.0
lotion	11	3.0	-	-	-	-	-	0.6	-	-
	12	2.0	-	-	-	-	-	-	2.5	-
	13	5.0	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	7.5	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	7.0	-	-	-	-	-	-	5.6	-
	16	6.0	-	-	-	-	-	-	3.1	-
	17	7.0	-	-	-	-	-	-	2.4	4.9
makeup base	18	1.0	-	-	-	-	-	-	2.0	-
	19	2.0	-	-	-	-	-	-	1.5	-
	20	3.5	-	-	-	-	-	-	3.0	-
liquid foundation	21	-	-	-	-	-	-	-	10.8	-
	22	2.0	-	-	-	-	-	-	10.0	-
	23	1.0	-	-	-	-	-	-	23.0	-
lotion*	24	7.2	0.1	-	-	-	-	0.5	-	-
	25	4.0	-	-	-	-	-	-	3.8	1.6
	26	7.4	-	-	-	-	-	-	6.2	3.2
	27	7.0	-	-	-	-	-	-	6.5	1.8
	28	6.5	-	-	-	-	-	-	14.6	1.0
	29	7.5	-	-	2.0	-	-	-	5.5	2.0
compact powder	30	1.0	0.5	-	-	-	-	-	15.5	-
	31	1.0	0.5	-	-	-	-	-	15.5	-
	32	4.5	-	-	-	-	-	-	15.5	-
	33	2.7	-	-	-	-	-	-	6.4	-
	34	-	-	-	-	-	-	-	11.6	-
	35	-	-	-	-	-	-	-	14.7	-
	36	2.9	-	-	-	-	-	-	15.6	-
	37	2.9	-	-	-	-	-	-	16.6	-
	38	2.0	-	-	-	-	-	-	15.4	-

OMC ; octyl methoxycinnamate, BMDM ; butyl methoxydibenzoylmethane,
MBC ; 3-(4-ethylbenzylidene) camphor, OS ; octyl salicylate, BP-3 ; benzophenone-3
HS ; homosalate, OT ; octyl triazone, TO ; titanium oxide, ZO ; Zinc oxide

* this lotions labled with "shake before use"

Table 2. Formulas of cream base (unit : %)

microcrystallin wax	0.5
bees wax	0.5
glyceryl monostearate	2.0
cetostearyl alcohol	2.5
sorbitan monostearate	0.3
polyoxyethylene sorbitan monostearate	1.2
methyl paraben	0.3
mineral oil	10.0
squalane	2.5
glycerin	5.0
1,3-butylenglycol	3.0
imidazolidinyl urea	0.2
water	to 100

2. 실험방법

가. 시료 도포물질의 선정

8% HMS standard를 vitro skin 또는 Transpore Tape에 적용하여 사용상의 편리성, 재현성 등을 검토하였다.

나. 표준시료

8% HMS standard 및 P3 reference standard를 2mg/cm²에 해당하는 양을 취하여 Transpore Tape의 전면에 일정한 두께로 도포한 다음 15분간 방치하고 자외선차단지수 측정기에 넣어 광조사하여 Diffeny and Robinson¹⁴⁾ 방법에 의해 자외선차단지수를 구하였다. 자외선차단지수 측정기는 시료를 도포하지 않은 transpore tape을 reference scan하여 보정하였고, 측정부위는 12곳으로 하였다.

나. 크림, 로오손, 메이크업베이스 및 리퀴드파운데이션

크림, 로오손, 메이크업베이스 및 리퀴드파운데이션은 시료 2mg/cm² 해당하는 양을 취하여 표준시료와 같은 방법으로 실험하였다. 다만 로오손에 “사용전 흔들어 주세요”라는 표기가 있는 제품은 시료를 충분히 흔들어 섞은 다음 실험하였다.

다. 압축분말

압축분말을 바셀린과 크림베이스로 각각 1 : 0.6, 1 : 0.8, 1 : 1의 비율로 섞은 다음 압축분말로서 2 mg/cm² 해당하는 양을 취하여 실험하였다.

라. 인체실험과의 상관성

사용한 시료의 인체적용한 자외선차단지수를 조사하여 *in vitro* 실험결과에 대한 상관계수를 구하였다.

결과 및 고찰

1. 시료도포물질 선정

8% HMS를 2가지 시료도포 물질에 적용한 결과 transpore tape은 4.59 ± 0.12 로, vitro skin의 4.60 ± 0.34 보다 우수한 재현성을 나타냈다. 또한 vitro skin은 Hydration 과정에 시간과 노력이 많이 소요되며, 강도가 약하여 holder에 부착이 어렵고, 공기중에서 쉽게 건조되며, 비용이 비싼 단점이 있어 본 실험에서는 transpore tape을 시료도포물질로서 선정하였다.

2. 표준시료

8% HMS 및 P3 Reference standard의 *in vitro* SPF 결과는 각각 4.59 ± 0.12 및 14.94 ± 0.83 으로서 식품의약품안전청 고시 2001-64호에서 규정하고 있는 4.47 ± 1.28 및 15.0 ± 3.0 와 유사한 결과를 나타내었다(Table 1).

Table 3. *in vitro* SPF of 8% HMS and P3 Reference Standard

Sample	<i>in vitro</i> SPF					Mean	STD
	1	2	3	4	5		
8% HMS	4.50	4.78	4.53	4.67	4.45	4.59	0.12
P3 RS	15.87	15.97	14.01	14.62	14.22	14.94	0.83

3. 크림, 로오손, 메이크업베이스 및 리퀴드파운데이션

크림, 로오손의 *in vitro* SPF 실험결과(Table 4, 5)는 *in vivo* SPF 결과와 각각 0.9506 및 0.9769의 높은 상관계수를 나타내었고(Fig. 1, 2), 메이크업베이스 및 리퀴드 파운데이션의 *in vitro* SPF 실험결과(Table 6)는 *in vivo* SPF 결과와 상관계수 0.8812를 나타내었고(Fig. 3), 사용전 흔들어 쓰는 로오손의 *in vitro* SPF 실험결과(Table 7)는 *in vivo* SPF 결과와 상관계수 0.8632를 나타내었다(Fig. 4). 크림, 로오손을 자외선 산란제인 산화티탄과 산화아연을 포함하지 않은 제품과 포함한 제품을 나누어 상관계수를 구한 결과 자외선흡수제만으로 이루어진 제품은 상관계수 0.9908로 좋은 결과를 나타낸 반면, 자외선산란제를 포함한 제품은 상관계수 0.9186로 낮아졌다(Fig. 5). 이러한 결과로 보아 *in vitro* SPF와 *in vivo* SPF와의 상관성은 제형에 의한 것보다 자외선 산란제 함유여부가 관련이 있는 것으로 사료된다.

4. 압축분말

압축분말은 크림베이스와 1 : 0.8의 비율로 혼합하여 도포하는 것이 가장 양호한 것으로 나타났고(Fig. 6, 7), 이 방법으로 실험한 결과 *in vivo* SPF 결과(Table 8)와 0.5984의 낮은 상관성을 나타내었다(Fig. 8).

Table 4. *in vitro* SPF of cream

Sample	<i>in vitro</i> SPF					Mean	STD	<i>in vivo</i> SPF
	1	2	3	4	5			
1	7.59	7.44	7.19	6.98	7.21	7.28	0.21	8.2
2	12.96	12.08	16.21	14.55	15.84	14.33	1.60	13.2
3	14.91	14.78	14.63	14.36	14.40	14.62	0.21	16.8
4	22.36	21.29	22.80	23.72	22.55	22.54	0.78	26.2
5	33.04	27.25	36.48	29.80	40.94	33.50	4.84	30.4
6	29.80	31.82	31.95	27.02	33.86	30.89	2.32	30.7
7	30.12	32.14	29.81	32.32	28.56	30.59	1.44	31.0
8	30.41	35.91	29.62	35.03	29.35	32.06	2.82	32.2
9	35.60	30.90	30.64	32.88	28.94	31.79	2.28	35.0
10	39.19	36.85	34.35	35.43	34.94	36.15	1.73	40.3

Table 5. *in vitro* SPF of lotion

Sample	<i>in vitro</i> SPF					Mean	STD	<i>in vivo</i> SPF
	1	2	3	4	5			
11	7.75	7.66	7.83	7.93	8.03	7.84	0.13	8.0
12	10.67	13.67	11.22	12.56	10.61	11.75	1.19	9.0
13	10.67	12.08	11.32	12.35	11.41	11.57	0.59	11.3
14	16.69	16.55	16.71	16.39	16.31	16.53	0.16	18.7
15	23.20	21.70	21.94	21.43	21.14	21.88	0.71	26.0
16	24.65	21.99	26.02	23.63	25.07	24.27	1.38	27.6
17	30.46	28.36	27.57	27.81	26.76	28.19	1.25	31.5

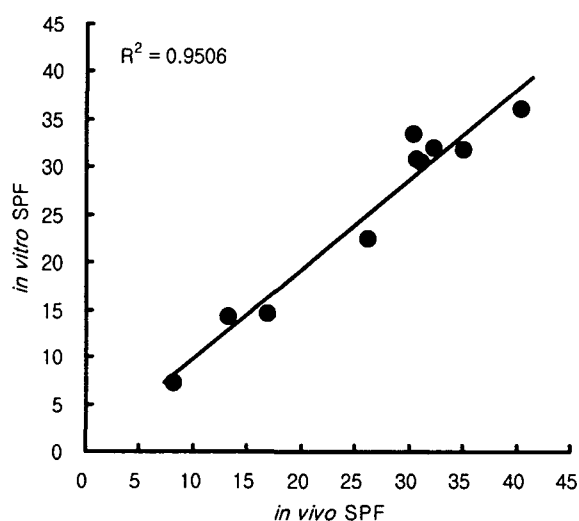


Fig. 1. Relationship between *in vivo* SPF and *in vitro* SPF for cream.

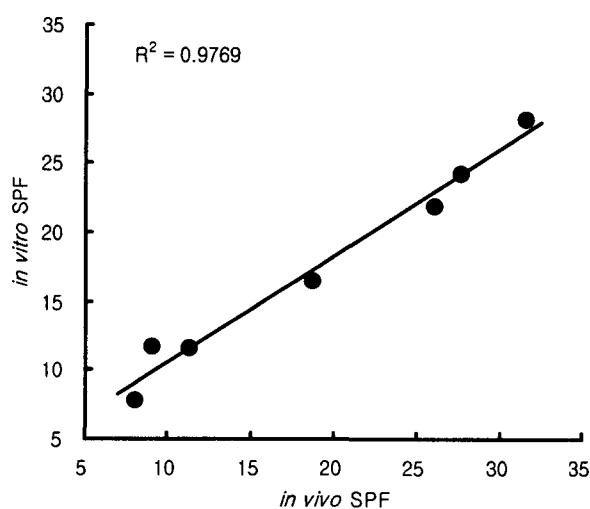


Fig. 2. Relationship between *in vivo* SPF and *in vitro* SPF for lotion.

Table 6. *in vitro* SPF of makeup base & liquid foundation

Sample	<i>in vitro</i> SPF					Mean	STD	<i>in vivo</i> SPF
	1	2	3	4	5			
18	3.67	3.95	3.69	3.92	3.78	3.80	0.12	5.3
19	8.17	8.81	8.32	8.43	8.53	8.45	0.22	7.5
20	8.13	7.22	7.36	7.22	6.90	7.37	0.41	11.4
21	14.35	14.88	16.97	15.46	12.32	14.80	1.52	12.5
22	12.92	12.58	10.91	11.22	10.87	11.70	0.87	15.8
23	31.20	29.09	32.66	26.44	24.71	28.82	2.93	25.0

Table 7. *in vitro* SPF of lotion labeled with “shake before use”

Sample	<i>in vitro</i> SPF					Mean	STD	<i>in vivo</i> SPF
	1	2	3	4	5			
24	13.63	14.21	13.61	14.64	14.75	14.17	0.48	11.1
25	23.32	21.45	26.60	16.96	27.71	23.21	3.84	20.0
26	31.46	29.62	23.51	35.93	25.67	29.24	4.37	30.2
27	29.72	29.90	27.50	24.79	30.39	28.46	2.09	32.4
28	48.73	47.02	44.75	42.60	54.20	47.46	3.95	41.5
29	36.16	40.27	43.12	33.45	39.99	38.60	3.39	45.0

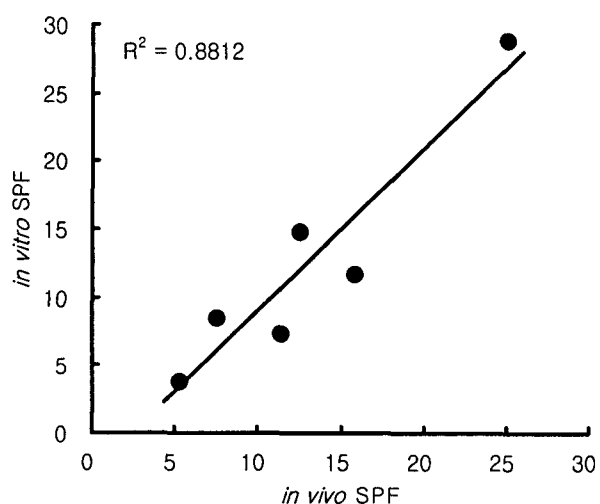


Fig. 3. Relationship between *in vivo* SPF and *in vitro* SPF for makeup base & liquid foundation

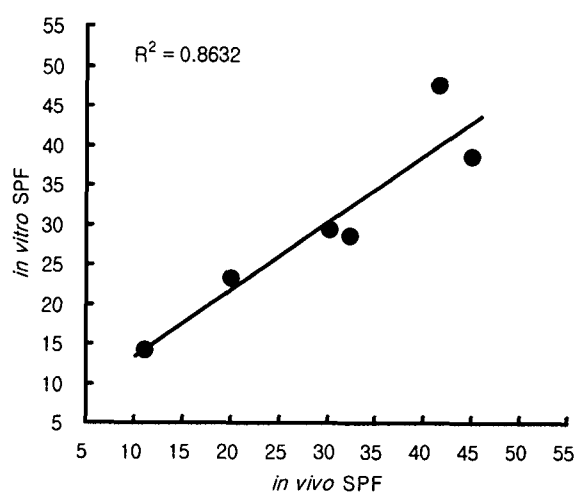
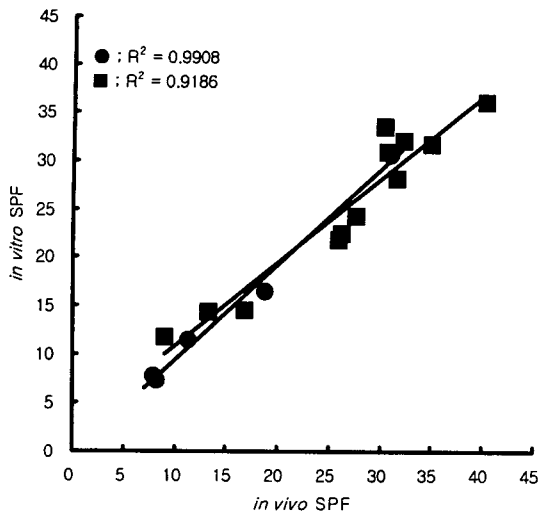


Fig. 4. Relationship between *in vivo* SPF and *in vitro* SPF for lotion labeled with “shake before use”



● : sample without UV scatter, ■ : sample with UV scatter

Fig. 5. Relationship between *in vivo* SPF and *in vitro* SPF for sample

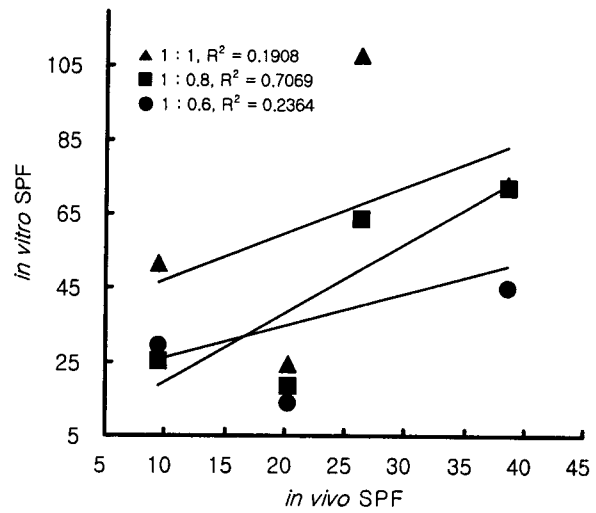


Fig. 6. Relationship between *in vivo* SPF and *in vitro* SPF for compact powder & vaseline mixture

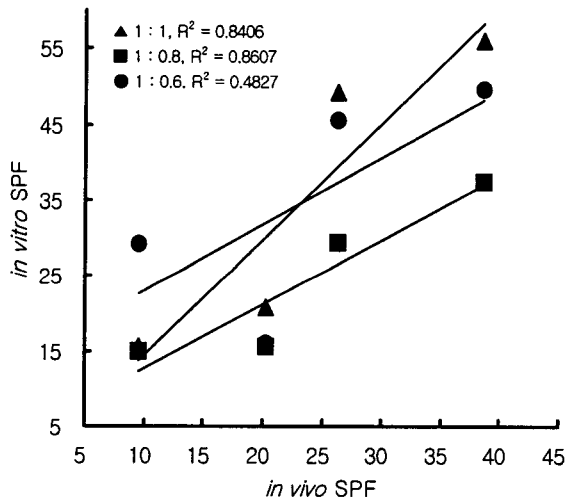


Fig. 7. Relationship between *in vivo* SPF and *in vitro* SPF for compact powder & cream base mixture

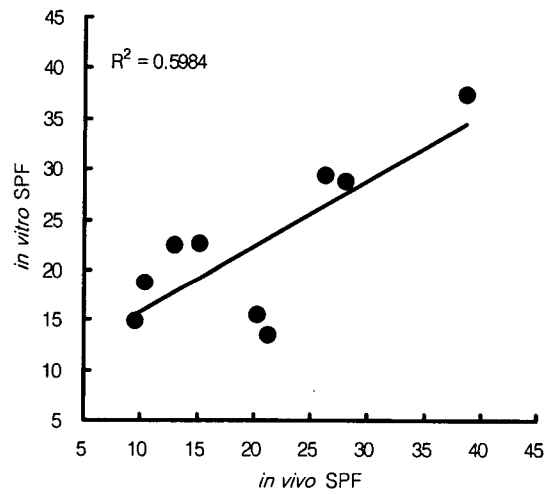


Fig. 8. Relationship between *in vivo* SPF and *in vitro* SPF for compact powder

Table 8. *in vitro* SPF of compact poeder

Sample	<i>in vitro</i> SPF					Mean	STD	<i>in vivo</i> SPF
	1	2	3	4	5			
30	14.23	14.82	15.55	12.18	17.44	14.84	1.72	9.5
31	18.53	16.80	19.19	18.57	20.96	18.81	1.34	10.3
32	19.93	20.05	21.39	24.19	27.07	22.53	2.74	13.0
33	20.65	24.81	23.97	21.71	22.03	22.63	1.53	15.2
34	14.68	15.22	15.69	16.00	15.71	15.46	0.46	20.3
35	13.87	13.01	13.81	14.31	12.11	13.42	0.78	21.3
36	27.72	26.88	28.44	30.89	33.44	29.47	2.39	26.3
37	29.86	25.43	29.81	28.30	30.51	28.78	1.83	28
38	35.56	36.81	34.49	37.57	43.00	37.49	2.95	38.6

결 론

자외선차단지수(SPF) *in vitro* 측정방법을 자외선차단지수측정기(SPF 290 analyzer)를 사용하여 실험한 결과는 다음과 같았다.

1. 크림, 로오션 등 액상 시료는 transpore tape에 2mg/cm² 해당량을 도포하는 것이 가장 좋은 결과를 나타내었고, 압축분말은 크림베이스와 1 : 0.8의 비율로 혼합하여 2mg/cm²을 도포하는 것이 가장 좋았다.

2. 위 측정방법으로 8% HMS 제제 및 P3 Reference standard 제제에 적용한 결과 식품의약품안전청 고시 2001-64호의 규정과 유사한 결과를 나타내었다.

3. 크림 및 로오션 제형에서는 상관계수 0.9506 및 0.9769로서 인체실험과 높은 상관성을 나타내었고, 메이크업베이스 및 리퀴드파운데이션, 분말이 가라앉아 있는 로오션, 압축분말은 각각 상관계수 0.8812, 0.8632, 0.5984를 나타내었다.

이상의 실험결과로 본 측정방법은 상관성이 우수한 제형의 경우 사람을 이용한 자외선차단지수 측정방법을 대체할 수 있을 것으로 기대되며, 이 후 자외선차단 화장품의 품질관리에 적용하고, 고시개정 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Nachtwey D. S. Rundel R. D. : A Photobiological evaluation of tanning booths. *Science*, 211, 405-407, 1981.
2. L. H. Kligman et al. : The contribution of UVA and UVB to connective tissue damage in hairless mice. *J. Invest. Dermatol.*, 84, 272-276, 1985.
3. Fears TR, Scotto J. Estimating increases in skin cancer morbidity due to increases in UV radiation exposure. *Cancer Invest.*, 1, 119-126, 1983.
4. Pathak M. A., Fitzpatrick T. B. Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis, and skin cancer with sun-protective agents In : Fitzpatrick T. B, Eisen A. Z, Wolf K, et al, eds. *Dermatology in general medicine*, 4th New York, McGraw-Hill book, 1689-1717, 1993.
5. 윤재일, 광방어, 광의학 : 여문각, 357~358, 1994.
6. U. S. Food and Drug Administration. Sunscreen Drug Products for Over-the-Counter human use; Final monograph. Federal Register Vol. 64, No 98, 27666~27693, 1999.
7. Japan Cosmetic Industry Association standard SPF Test method, Japan Cosmetic Industry Association, 1992.
8. COLIPA Sun protection factor test method. The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association. October, 1994.
9. 장영경, 최상숙, 이규식, 손경훈, 김유선, 정면우, 이훈파, 김종갑, 오원식 화장품의 특수성분에 관한 연구(IX) -일소방지용제품중 자외선차단지수의 측정법. *식품의약품안전청연보* Vol. 1, 190~196, 1996
10. 최상숙 등 한국의 자외선차단지수 측정방법 개발 -한국의 자외선차단지수 측정방법 연구. 보건의료기술개발사업 최종보고서
11. 식약청고시 2001-64호 자외선차단효과 측정방법 및 기준. 2001. 10. 10
12. Cayrol C, Sarraute J, Tarroix R, Redoubles D, Charveron M, Dall Y, A mineral sunscreen affords genomic protection against ultraviolet(UV) B and UVA radiation : in vitro and in situ assays. *British Journal of Dermatology*, 141, 250~258, 1999
13. Stokes R. P, Deffey B. L., Dawson L. C., Barton S. P., A novel in vitro technique for measuring water resistance of sunscreens. *International Journal of Cosmetics Science* 20, 235~340, 1998
14. Diffey B. L, Robson J. A New substrate to Measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 40, 127~133, 1989.

Studies on the evaluation of efficacy of functional cosmetics(I)

- Studies on the *in vitro* SPF test method of sunscreen products

Department of Drug Evaluation

Kyung Hun Son, Young Ok Kim, Jeong Pyo Lee, Seong Jun Yang, Ock Jin Paek, Won Hee Kim, Chong Kap Kim**, Moon Young Heo***, Sang Sook Choi*

ABSTRACT - The present study was undertaken to develop the *in vitro* sunprotection factor(SPF) measurement method having good correlation with *in vivo* method. As *in vitro* method, 8% homomentyl salicylate, P3 reference standard and sunscreens on market were measured using SPF 290 analyzer and were compared the SPF with labeled value. *In vitro* SPF of 8% HMS and P3 reference standard were 4.59 ± 0.12 and 14.94 ± 0.83 . There are good correlation, correlation factor were 0.9506 and 0.9769 respectively, between the *in vitro* and *in vivo* SPF for the sunscreen creams and lotions examined. Correlation factors of makeup base & liquid goundation, lotion labled with "shake before use", compact powder were 0.8812, 0.8632 and 0.5984. The best sample applied method of compact powder was 1:0.8 mixture with cream base. These results suggest that the *in vitro* test method could be used as an alternative method for SPF.

Keywords : Sunprotection factor, SPF, *in vitro*, SPF 290 analyzer, correlation factor

* Corresponding author : Sang Sook Choi(Tel. 02/380/1720)

** College of pharmacy, Chung-Ang University

*** College of pharmacy, Kang-won University