

Phenoxyethanol을 이용한 저자극 방부시스템 개발에 관한 연구

안기웅[†] · 이춘몽 · 김형배 · 정지현 · 조병기

코리아나화장품 연구소

(2005년 2월 22일 접수, 2005년 3월 7일 채택)

The Studies on the Development of Low Irritable Preservative System with Phenoxyethanol in Cosmetics

Gi Woong Ahn[†], Chun Mong Lee, Hyeong Bae Kim, Ji Hean Jeong, and Byoung Kee Jo

R&D Center, Coreana Cosmetics 204-1, Jeongchon-ri, Seonggeo-eup, Cheonan-si, Chungnam 330-833, Korea

(Received February 22, 2005; Accepted March 7, 2005)

요약: 최근, 민감성 피부가 증가함에 따라 화장품의 안전성이 매우 중요시 되고 있으며, 특히 방부제는 화장품 사용에 따른 부작용을 일으킬 수 있는 주요 자극원의 하나로 알려져 있다. 하지만, 방부제의 세포 독성, 피부 투과, 유/수 분배, 항균력 비교 및 이를 통한 피부 자극과의 상관성 분석에 관한 연구는 전무한 실정이다. 본 연구의 목적은 상기의 여러 factor를 고려하여 화장품에서 빈번히 사용되고 있는 방부제의 하나인 phenoxyethanol을 이용한 저자극 방부시스템 개발에 관한 것이다. MTT assay를 통하여 human normal fibroblast cell에 대한 독성을 평가해 본 결과, 세포 독성은 propylparaben > butylparaben > ethylparaben > methylparaben > triclosan > phenoxyethanol 순으로 확인되어 phenoxyethanol이 다른 방부제에 비해 낮은 세포 독성을 나타낸 반면, 피부 일차자극을 알아보기 위하여 수행한 인체 침포시험에서는 triclosan, methylparaben에 비해 높은 피부 자극을 나타내었다. 5~8 주령의 웅성 무모생쥐의 피부를 적출하여 *in vitro* Franz diffusion cell system을 이용한 방부제의 피부 투과도를 측정하여 본 결과, 피부 투과도는 phenoxyethanol > methylparaben > ethylparaben > propylparaben > butylparaben > triclosan 순으로 확인되어 세포 독성이 낮은 phenoxyethanol의 높은 피부 자극이 높은 피부 투과도와 연관성이 큰 것을 확인하였다. 따라서, 본 연구에서는 비교적 독성이 낮은 phenoxyethanol의 피부 투과도를 감소시킬 수 있는 방법을 찾고자 하였으며, 연구 결과, 제형 내 polarity가 낮은 oil을 사용할 경우 phenoxyethanol의 피부 투과가 현격히 감소하며, 피부 자극도 감소함을 알 수 있었다. Oil polarity에 따른 phenoxyethanol의 유/수 분배 측정 결과, polarity가 낮은 oil에서는 70% 이상의 phenoxyethanol이 수상에 존재한 반면, polarity가 높은 oil에서는 약 70~90%의 phenoxyethanol이 유상에 존재하였다. 또한, 미생물에 대한 항균력도 phenoxyethanol이 수상에 많이 존재할수록 증가하는 경향을 나타내었다. 따라서, 제형 내 oil composition을 변화시킴으로써 phenoxyethanol의 사용량을 줄일 수 있을 뿐만 아니라, 피부 투과를 감소시켜 보다 피부 자극이 적은 저자극 방부시스템 개발이 가능하리라 보여진다.

Abstract: Recently, according as people who have sensitive skin increase, we've been giving more importance to the safety of cosmetics. Especially, preservative is known to be one of the main stimuli which cause side-effects of cosmetics. However, there have been few reports describing cell cytotoxicity, skin penetration, oil-aqueous phase partition, anti-microbial activity of preservatives and their correlation with skin irritation. The study is aimed to develop low irritable preservative system with phenoxyethanol, one of the most commonly used preservatives in cosmetics, considering various factors mentioned above. According to our results of cell cytotoxicity against human normal fibroblasts by means of MTT assay, phenoxyethanol showed the lowest cytotoxicity when compared to other preservatives tested (cytotoxicity: propylparaben > butylparaben > ethylparaben > methylparaben > triclosan > phenoxyethanol), but human patch test for assessing skin primary irritation revealed that phenoxyethanol has higher skin irritation than methylparaben and triclosan. We performed *in vitro* skin penetration test using horizontal Franz diffusion cells with skin membrane prepared from hairless mouse (5~8 weeks, male) to evaluate the rate of skin penetration of preservatives. From the results, we found that the higher irritable property of phenoxyethanol in human skin correlates with its predominant permeability (skin penetration: phenoxyethanol > methylparaben > ethylparaben > propylparaben > butylparaben > triclosan). Therefore, we made an effort to reduce skin permeability of phenoxyethanol and found that not only the rate of skin penetration of phenoxyethanol but also its skin irritation is dramatically reduced in formulas containing oils with low polarity. In the experiments to investigate the effect of

[†] 주 저자 (e-mail: gwahn@coreana.co.kr)

oil polarity on the oil-aqueous phase partition of phenoxyethanol, more than 70% of phenoxyethanol was partitioned in aqueous phase in formulas containing oils with low polarity, while about 70 ~ 90% of phenoxyethanol was partitioned in oil phase in formulas containing oils with high polarity. Also, in aqueous phase phenoxyethanol showed greater anti-microbial activity. Conclusively, it appears that we can develop less toxic preservative system with reduced use dosage of phenoxyethanol and its skin penetration by changing oil composition in formulas.

Keywords: phenoxyethanol, cytotoxicity, skin penetration, irritation, oil polarity, partition, anti-microbial activity

1. 서 론

최근, 민감성 피부가 증가함에 따라 화장품의 안전성이 매우 중요시 되고 있다. 1980년대부터 일본 여성을 대상으로 실시한 자신의 피부가 민감성 피부라고 생각하고 있는지 여부에 대한 앙케이트 조사 결과에 의하면, 민감성 피부라고 인식하고 있는 여성의 비율이 1980년대에는 약 20%에 머물던 것이 1992년 조사에서는 약 33%, 1998년 조사에서는 약 43%로 나왔으며, 2002년에는 50% 이상의 여성이 자신의 피부가 민감성 피부라고 인식하고 있음을 알 수 있다. 자신을 민감성 피부라고 인식하고 있는 대상자들에게 그 이유를 조사하여 본 결과, 화장품을 바꿀 때의 위화감, 화장품 사용 시 피부트러블 경험 등과 같이 화장품 사용에 따른 부작용을 호소한 경우가 매우 높은 비율을 차지하였다[1]. 따라서, 각 화장품 제조사들은 보다 자극 유발 가능성이 적은 저자극성 화장품 개발을 위하여 많은 노력을 하고 있으며, 본 연구의 목적은 저자극성 화장품 개발을 위한 저자극 방부시스템 확립에 있다.

일반적으로 화장품은 장기간 보관 또는 사용 중에 미생물이 오염되기 쉽다. 미생물 오염은 제품의 변색, 변취 등과 같은 변성을 일으킬 수 있으며, 제품의 효능을 떨어뜨릴 뿐만 아니라 사용자에게 미생물 감염을 유발할 수 있다[2]. 이러한 미생물 오염을 방지해주기 위해 화장품에 첨가되는 방부제는 화장품 사용에 따른 부작용을 일으킬 수 있는 주요 자극원의 하나로 알려져 있다. 하지만, 방부제의 세포 독성, 피부 투과, 유/수 분배, 항균력 비교 및 이를 통한 피부 자극과의 상관성 분석에 관한 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 화장품에서 사용되고 있는 방부제 6종(methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben, triclosan, phenoxyethanol)의 세포 독성, 피부 투과도 비교 및 피부 자극과의 상관성 분석을 시도하였으며, 또한 제형 내 oil polarity에 따른 phenoxyethanol의 유/수 분배, 피부 투과도, 항균력, 피부 자극 비교를 통하여 저자극 방부시스템을 개발하고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1. 세포배양

신생아 표피조직에서 분리한 human dermal fibroblasts는 Biowhittaker (Walkersville, MD, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 10% 우태아 혈청(Invitrogen Co., USA), 2 mM glutamine (Invitrogen Co., USA), 1% penicillin-streptomycin (Invitrogen Co., USA)이 첨가된 DMEM (Sigma, USA) 배지에서 배양하였다. 5% CO₂, 37°C 조건에서 배양하였으며, 3 ~ 8 세대 세포를 본 실험에 사용하였다.

2.2. 세포 독성 평가

방부제의 세포 독성은 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide]의 환원에 의한 blue formazan 형성을 이용한 세포 생존율 측정을 통해 평가하였다. 사람의 섬유아세포를 96 well plate에 3×10^4 cells/well씩 분주하여 10% 우태아 혈청/DMEM 배지로 48 h 배양시킨 다음, 새로운 serum-free 배지와 적정 농도 범위에서 단계적으로 희석한 시료를 가하고, 다시 24 h 동안 CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양 후, MTT 용액 (5 mg/mL) 10 μ L씩을 각 well에 첨가한 뒤 4 h 동안 추가 배양하고, 용액을 버린 후, 다시 각 well 당 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma) 용액 100 μ L씩을 가하여 교반한 후 microplate reader (SPECTRA MAX 340, Molecular Devices)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다[3]. 대조군은 시료를 처리하지 않은 배양액으로 하였다.

2.3. 인체 철폐시험

피부 일차 자극을 평가하기 위한 인체 철폐시험을 CTFA guideline에서 제시한 방법에 약간의 변형을 가하여 실시하였다[4]. 평소 피부 질환 및 알러지가 없는 20명의 피험자(남자 12명, 여자 8명)를 대상으로 실시하였으며, 연령 분포는 24 ~ 34세, 평균 연령은 29세였다. 우선, 철폐 부위인 전박을 70% 에탄올로 닦아내고 건조시킨 후, 시험물질이 적용된 Finn chambers (Epitest Ltd Oy, Finland)를 시험 부위에 철폐하였다. 24 h 후에 철폐를

제거하고 30 min, 24 h 후에 자극 발생 유무를 평가하였다. 평가 기준은 International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG)의 판정 기준에 따랐으며, 피부 자극 유발 가능성의 평가는 다음 계산식으로부터 계산된 평균값으로 하였다[5,6].

$$\text{Mean Score} = \frac{\text{Grade} \times \text{No. of responses} \times 100 \times 1/2}{3 (\text{Maximum grade}) \times 20 (\text{Total subjects})}$$

Grade Score

- 0 : No reaction
- ± 0.5 : Weak positive reaction (erythema)
- + 1 : Moderate positive reaction (erythema)
- ++ 2 : Strong positive reaction (erythema, edema)
- +++ 3 : Severe positive reaction (erythema, edema, vesicles)

2.4. *In vitro* 피부 투과 실험

방부제의 피부 투과도를 알아보기 위한 *in vitro* skin penetration test는 동물 또는 사람의 피부를 holder에 고정시킨 후 표피 쪽에서 액체 medium 쪽으로 물질이 투과되는 양을 측정하는 장치인 수직형 확산 cell, Franz diffusion cell (FCDV-15, Labfine Co., Korea)을 이용하여 수행하였다. 실험 전에 동결되어 있는 hairless mouse 피부를 상온에서 서서히 녹여 Franz diffusion cell의 donor compartment와 receptor compartment에 끼우고 피부의 표면은 실온에 노출시켰다. Skin membrane은 5~8 주령의 웅성 무모생쥐(중앙실험동물, Korea)로부터 적출하여 실험 전까지 -70℃에 냉동 보관하였다. Receptor compartment에는 pH 7.4 인산염 완충액(phosphate buffered saline, PBS)으로 채웠으며 600 rpm 정도로 계속 교반하면서 온도는 37℃를 유지하였다. Receptor compartment와 접촉하는 피부의 면적은 0.64 cm²이었으며 receptor compartment의 용량은 5 mL이었다. 피부 표면에 시험 물질 0.5 g을 적용한 후 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 h에 0.15 mL의 receptor compartment의 용액을 채취하였으며, 즉시 동량의 신선한 인산염 완충액으로 보충하였다.

2.5. 방부제의 HPLC 정량 분석

Receptor phase로 투과된 방부제의 농도는 고속액체크로마토그래피(HPLC)를 사용하여 정량하였다. 시료 0.15 mL에 에탄올을 넣어 정확히 1 mL로 한 후 초음파로 분산시키고 0.45 μm 여과막을 이용, 여과하여 10 μL를 HPLC 분석을 행하였다. HPLC 분석 조건으로 크로마토그래피는 Waters사의 Waters 2690 HPLC를, column은 Symmetry C18 (5 μm, 4.6 I.D. × 250 mm), 컬럼 오븐의 온도는 30℃, 검출기는 Photodiode Array 검출기를 사용하였으며, 측정

Table 1. Gradient Elution Condition for HPLC Analysis

| Time (min) | Flow rate (mL/min) | Solvent A | Solvent B |
|------------|--------------------|-----------|-----------|
| 0 | 1.0 | 85 | 15 |
| 5 | 1.0 | 85 | 15 |
| 13 | 1.0 | 25 | 75 |
| 22 | 1.0 | 25 | 75 |
| 26 | 1.0 | 85 | 15 |
| 30 | 1.0 | 85 | 15 |

Solvent A : Water

Solvent B : Acetonitrile

파장의 범위는 200~400 nm, 측정 파장은 272 nm로 하였다. 유속은 1.0 mL/min이며, 이동상은 아세토니트릴과 물을 기울기용리로 하여 Table 1 조건에 따라 실시하였다.

2.6. 유/수 분배 측정

Phenoxyethanol의 oil polarity에 따른 유/수 분배를 측정하기 위해 0.1% phenoxyethanol을 oil:water 비율을 1:1로 하여 총량이 40 mL 되도록 섞은 후 30℃에서 하루 동안 진탕하였다. 4000 rpm에서 10 min간 원심분리 한 후 oil phase와 aqueous phase에 존재하는 phenoxyethanol 농도를 HPLC를 사용하여 상기 방법으로 측정하였다.

2.7. 항균력 실험

Phenoxyethanol의 oil polarity 및 유/수 분배에 따른 항균력을 평가하여 보았다. 우선, tryptic soy broth (TSB) 배지에 phenoxyethanol을 0.5% 농도로 첨가한 후, 각각 oil을 3%, 6% 농도가 되도록 첨가하였다. 이 후 35℃ 배양기에서 24 h 동안 110 rpm으로 진탕 배양하였다. TSB 배지에 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (Sigma, USA)를 0.001% 첨가한 후 미생물 3종(*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*)을 각각 접종하여 다시 18 h 배양하였다. Bacteria 2종(*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*)의 경우에는 배양액을 원심분리(12500 rpm, 2 min)하여 cell pellet을 분리한 다음 95% ethanol로 formazan을 90~120 min간 추출하여 485 nm에서 흡광도를 측정하였으며, yeast인 *Candida albicans*는 배양액 그대로 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 방부제 6종의 세포 독성 비교

방부제 자체의 독성 정도를 알아보기 위하여 화장품에서 가장 많이 사용되고 있는 방부제 6종(methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben, triclosan,

Table 2. Comparison of Cell Cytotoxicity

| Preservatives | LC ₅₀ (%) | Rank |
|----------------|----------------------|------|
| Methylparaben | 0.072 | 4 |
| Ethylparaben | 0.027 | 3 |
| Propylparaben | 0.012 | 1 |
| Butylparaben | 0.015 | 2 |
| Phenoxyethanol | 0.196 | 6 |
| Triclosan | 0.087 | 5 |

Table 3. Results of Human Patch Test

| Preservatives | No. of responses | | Mean score (n=20) | Grade |
|----------------|------------------|--------|----------------------|-------|
| | 30 min | 24 h | | |
| | ± + ++ | ± + ++ | | |
| Methylparaben | 6 - - | - - - | 1.25 | II |
| Phenoxyethanol | 7 - - | 1 - - | 1.67 | III |
| Triclosan | 4 - - | - - - | 0.83 | II |

phenoxyethanol)을 대상으로, 사람의 섬유아세포에 대한 세포 독성을 MTT assay로 평가하여 보았다. 실험 결과, phenoxyethanol의 LC₅₀ 값, 즉 세포를 50% 사멸시키는 농도가 0.196%로 가장 낮은 세포 독성을 나타내었으며, triclosan, methylparaben, ethylparaben, butylparaben, propylparaben 순으로 세포 독성을 나타내었다(Table 2).

3.2. 인체 철폐시험

앞서의 세포 독성 비교에서 비교적 낮은 세포 독성을 나타내었던 methylparaben, phenoxyethanol, triclosan에 대한 인체 철폐시험(human patch test)을 수행하여 보았다. 일반적으로 인체 철폐시험은 피부 일차자극을 평가하는 방법으로 통상 홍반, 부종, 수포 등의 유발 정도를 평가한다. 피부 일차자극 정도는 크게 5 grade로 나누어 평가하였다 0 ~ 0.75(Grade I, no irritation), 0.76 ~ 1.50(Grade II, slight irritatin), 1.51 ~ 2.50(Grade III, moderate irritation), 2.51 ~ 5.00(Grade IV, strong irritation), 5.01-(Grade V, severe irritation). 인체 철폐시험 결과는 Table 3에 제시하였다.

실험 결과, Table 3에서 보듯이 phenoxyethanol이 가장 높은 피부 일차자극을 나타내었다. 이는 앞서 phenoxyethanol의 세포 독성이 가장 낮은 것과 상반되는 결과로, phenoxyethanol 자체의 독성은 낮은 반면, 피부 투과도가 다른 방부제에 비해 매우 높기 때문에 이런 결과가 나타났을 것이라고 가정하고, 방부제 6종에 대한 피부 투과도 실험을 진행하여 보았다.

3.3. In vitro 피부 투과 실험

방부제 6종의 hairless mouse skin에 대한 피부 투과도

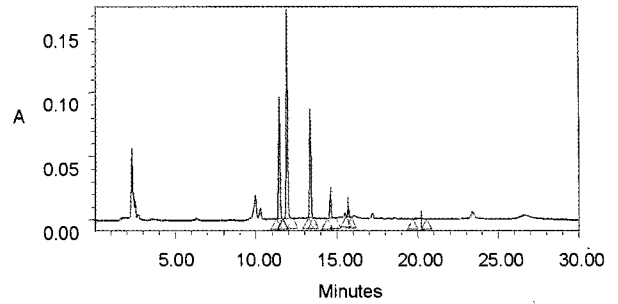


Figure 1. HPLC chromatogram of preservatives by gradient elution method.

Table 4. Retention Time of 6 Kinds of Preservatives

| Preservatives | Retention time (min) |
|----------------|----------------------|
| Phenoxyethanol | 11.499 |
| Methylparaben | 11.919 |
| Ethylparaben | 13.354 |
| Propylparaben | 14.597 |
| Butylparaben | 15.704 |
| Triclosan | 20.210 |

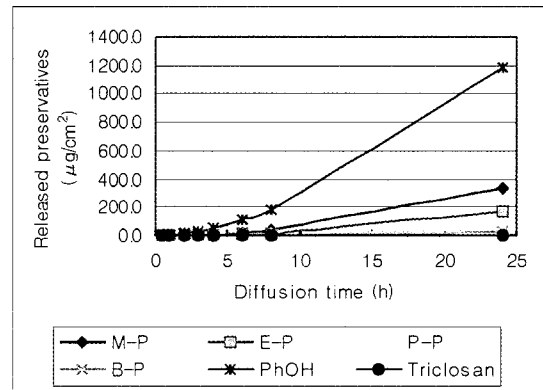


Figure 2. Penetration profiles of preservatives through excised hairless mouse skin from PG vehicles.

를 알아보려고 수직형 확산 cell인 Franz diffusion cell을 이용하여 in vitro skin penetration test를 수행하였다. Figure 1 및 Table 4는 기울기용리법으로 얻어진 방부제 6종의 HPLC chromatogram과 retention time을 보여주고 있다.

방부제 농도를 각각 1.0%로 하고, vehicle로 propylene glycol, n값을 3으로 하여 피부 투과 실험을 수행해 본 결과, 피부 투과도가 phenoxyethanol, methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben, triclosan 순으로 확인되어 molecular weight이 증가함에 따라 피부 투과도는 감소함을 확인할 수 있었다(Figure 2). 특히,

Table 5. Steady-state Permeation Rate (Skin Flux, Js)

| Rank | Preservatives | Js ($\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$) | MW |
|------|----------------|--|--------|
| 1 | Phenoxyethanol | 49.55 | 138.16 |
| 2 | Methylparaben | 13.81 | 152.14 |
| 3 | Ethylparaben | 6.94 | 166.17 |
| 4 | Propylparaben | 2.03 | 180.20 |
| 5 | Butylparaben | 1.13 | 194.23 |
| 6 | Triclosan | 0.05 | 289.50 |

Table 6. Formula Composition Used in This Experiment

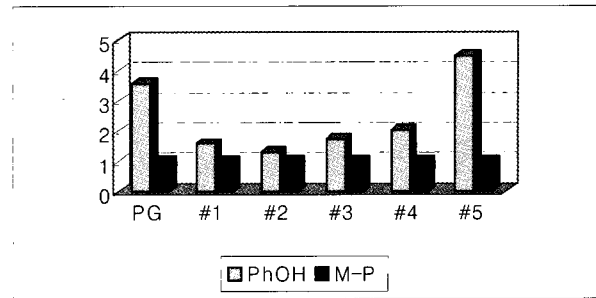
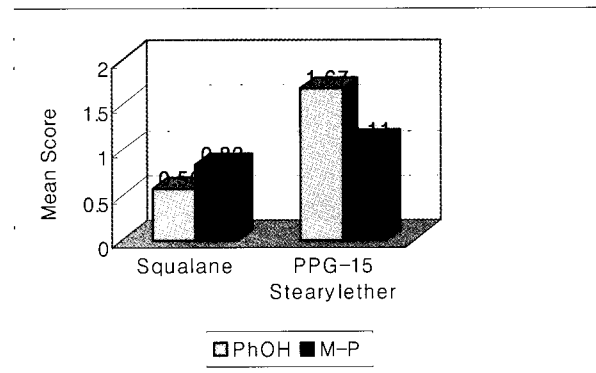
| Raw Materials | Dosage (wt%) |
|---|--------------|
| Oil | 20.00 |
| Cetearyl olivate & sorbitan olivate | 3.00 |
| Polyacrylamide & C13-14 isoparaffin & laureth-7 | 1.00 |
| Phenoxyethanol | 1.00 |
| Methylparaben | 1.00 |
| Water | To 100 |

skin flux, 즉 단위시간당 단위 면적을 통해 투과한 물질의 총량을 나타내는 Js 값이 phenoxyethanol의 경우 $49.55 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$ 로 두번째로 피부 투과도가 높은 methylparaben에 비해 약 3.6배 높은 피부 투과도를 나타내었다. 따라서, 가장 낮은 세포 독성을 나타내는 phenoxyethanol의 높은 피부 자극은 높은 피부 투과에 기인함을 알 수 있다.

3.4. Oil Polarity에 따른 Phenoxyethanol의 피부 투과도 및 피부 일차자극 비교

Phenoxyethanol의 경우 다른 방부제들에 비해 낮은 세포 독성을 보인 반면, 피부 투과도가 높기 때문에 상대적으로 높은 피부 자극을 유발한 것으로 보이며, phenoxyethanol의 피부 투과도를 낮추어 준다면(방부제 자체의 세포 독성은 고정된 값) 저자극 방부제로서 적합한 후보 물질이 될 가능성이 높다.

다음 실험으로 일반적인 제형 내에서의 oil polarity가 phenoxyethanol의 피부 투과도 및 피부 자극에 미치는 영향을 조사하여 보았다. 실험에 사용한 oil은 #1: squalane (polarity index 46.2), #2: mineral oil (polarity index 43.7), #3: isopropyl myristate (polarity index 24.2), #4: wheat germ oil (polarity index 8.3), #5: PPG-15 stearylether (polarity index 4.8) 총 5종이었으며, polarity index 값이 클수록 nonpolar oil로서 물과의 interfacial tension 값이 큼을 의미한다[7]. 따라서 본 연구에서는 nonpolar oil 2종(squalane, mineral oil), polar oil 2종(PPG-15 stearylether, wheat germ oil) 및 중간 정도의 polarity를

**Figure 3.** Influence of oil polarity in formulas on the skin permeation of phenoxyethanol.**Figure 4.** Relationship between oil polarity in formulas and skin irritation.

갖는 oil 1종(isopropyl myristate)을 선정하여 실험에 사용하였으며, formula 조성은 Table 6과 같다.

Oil polarity에 따른 phenoxyethanol의 피부 투과도 비교 실험 결과, polar oil인 PPG-15 stearylether나 wheat germ oil을 함유하는 제형에 비해 nonpolar oil인 squalane이나 mineral oil을 사용한 제형의 경우, phenoxyethanol의 피부 투과도가 현저히 감소하였음을 확인하였다(Figure 3).

또한, Figure 4의 인체 첩포시험 결과에서 알 수 있듯이, nonpolar oil (squalane)의 경우, phenoxyethanol을 함유하는 제형이 methylparaben을 함유하는 제형에 비해 오히려 낮은 피부 자극을 나타내었으며, polar oil (PPG-15 stearylether)을 사용한 경우, phenoxyethanol의 피부 투과도가 높기 때문에 methylparaben에 비해 높은 피부 자극을 나타내었다.

3.5. Phenoxyethanol의 Oil Polarity에 따른 유/수 분배 측정

앞서의 결과에서, oil polarity가 phenoxyethanol의 피부 투과도에 큰 영향을 줄 수 있음을 확인하였다. Oil polarity가 어떠한 작용 기전으로 phenoxyethanol의 피부 투과도를 변화시키는지 알아보기 위하여 우선 oil polarity

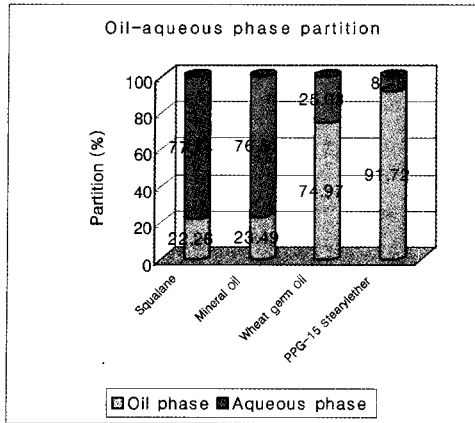


Figure 5. Effect of oil polarity on partition of phenoxyethanol between oil and aqueous phase.

에 따른 phenoxyethanol의 유/수 분배를 측정하여 보았다.

Figure 5에서 보이듯이, polarity가 낮은 oil에서는 70% 이상의 phenoxyethanol이 수상에 존재한 반면, polarity가 높은 oil에서는 약 70 ~ 90%의 phenoxyethanol이 유상에 존재하였다. 따라서, phenoxyethanol이 유상에 존재하는 경우에 비해 수상에 존재하는 경우, 피부 투과도가 감소함을 알 수 있다.

3.6. Phenoxyethanol의 Oil Polarity에 따른 항균력 평가

일반적으로 미생물은 제형 내에서 유상에 존재하기 보다는 수상에 존재하며 증식하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 방부제가 유상에 존재할 때보다 수상에 존재하는 경우 미생물에 대한 항균력이 더욱 우수할 것으로 기대되어진다.

유/수 분배 실험 결과, oil polarity에 따라 phenoxyethanol의 유/수 분배가 크게 달라짐을 확인하였으며, 유/수 분배에 따라 phenoxyethanol의 항균력은 어떠한 영향을 받는 지 확인해 보기 위하여 미생물 3종(*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*)에 대한 항균력 실험을 수행해 보았다. 실험 결과, 기대되었던 대로 phenoxyethanol이 수상으로 많이 partition되어질수록 높은 항균력을 나타냄을 확인하였다(Figure 6).

4. 결 론

본 연구에서는 화장품에서 사용되고 있는 방부제 6종(methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben, triclosan, phenoxyethanol)의 세포 독성, 피부 투과도 비교 및 피부 자극과의 상관성 분석을 시도하였으며, 또한 제형 내 oil polarity에 따른 phenoxyethanol의 유/수

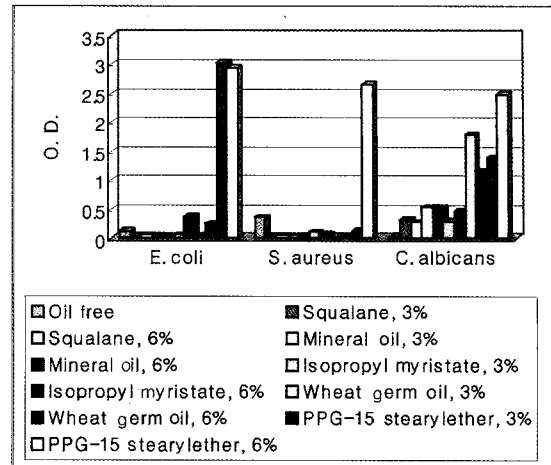


Figure 6. Effect of oil polarity on the anti-microbial activity of phenoxyethanol.

분배, 피부 투과도, 항균력, 피부 자극 비교를 통하여 phenoxyethanol을 이용한 저자극 방부시스템을 개발하고자 하였다.

MTT assay를 통하여 human normal fibroblast cell에 대한 독성을 평가해 본 결과, 세포 독성은 propylparaben > butylparaben > ethylparaben > methylparaben > triclosan > phenoxyethanol 순으로 확인되어 phenoxyethanol이 다른 방부제에 비해 낮은 세포 독성을 나타내었으나, 피부 일차자극을 알아보기 위하여 수행한 인체 첩포시험에서는 triclosan, methylparaben에 비해 높은 피부 자극을 나타내었다.

5 ~ 8 주령의 웅성 무모생쥐의 피부를 적출하여 *in vitro* Franz diffusion cell system을 이용한 방부제의 피부 투과도를 측정하여 본 결과, 피부 투과도는 phenoxyethanol > methylparaben > ethylparaben > propylparaben > butylparaben > triclosan 순으로 확인되어 phenoxyethanol의 높은 피부 자극이 높은 피부 투과도에 기인함을 확인하였다.

또한, 본 연구에서는 비교적 독성이 낮은 phenoxyethanol의 피부 투과도를 감소시킬 수 있는 방법을 찾되자 하였으며, 연구 결과, 제형 내 polarity가 낮은 oil을 사용할 경우 phenoxyethanol의 피부 투과가 현격히 감소하며, 피부 자극도 감소함을 알 수 있었다. Oil polarity에 따른 phenoxyethanol의 유/수 분배 측정 결과, polarity가 낮은 oil에서는 70% 이상의 phenoxyethanol이 수상에 존재한 반면, polarity가 높은 oil에서는 약 70 ~ 90%의 phenoxyethanol이 유상에 존재하였다. 또한, 미생물에 대한 항균력도 phenoxyethanol이 수상에 많이 존재할수록 증가하는 경향을 나타내었다.

따라서, 제형 내 oil composition을 변화시킴으로써 ph-

enoxyethanol의 사용량을 줄일 수 있을 뿐만 아니라, 피부 투과를 감소시켜 보다 피부 자극이 적은 저자극 방부 시스템 개발이 가능하리라 보여진다.

참 고 문 헌

1. M. Itoh, The consideration and measures of sensitive skin from viewpoint of dermatologist, *Fragrance Journal*, **30**(10), 11 (2002).
2. S. R. Marouchoc, Cosmetic preservation, *Cosmet. Technol.*, **2**, 38 (1980).
3. T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application of proliferation and cytotoxicity, *J. Immunol. Methods*, **65**, 55 (1983).
4. CTFA Safety Testing Guideline: The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association, Inc. Washington, D. C. 20023 (1991).
5. Textbook of Contact Dermatitis, ed. J. M. Lachapelle, Springer-Verlag London (1992).
6. T. Fisher and H. Maibach, Finn chamber patch test technique, *Contact Dermatitis*, **11**, 137 (1984).
7. A short textbook of cosmetology, ed. K. F. De Polo, 1st edition, 149 (1998).