

## 실험동물에 대한 *para-phenylenediamine*을 함유하는 염모제의 피부 및 눈에 대한 시험

김정진<sup>\*</sup> · 이순우 · 용금찬  
경기도 보건환경 연구원 약품분석과

(Received June 17, 1994)

### A Study on the Skin and Eye Testing of *para-phenylenediamine* and commercial hairdyes containing paraphenylenediamine in animals

Jung Jin Kim<sup>\*</sup>, Sun Woo Lee and Km Chan Yong

Division of Drug Analysis, Public Institute of Health and Environment, 324-1, Pajang dong,  
Sowon Kyong Gi-Do, Korea

**Abstract**—Now para-phenylenediamine(PPDA) is generally used as component of most hairdyes because it can be used more conveniently and effectively than the others. But PPDA become known to cause side effects such as skin sensitization, contact dermatitis and eye irritation. So this study was done to restudy the safety of hairdyes containing PPDA. The results of experiment were as follows. 1. As a result of primary skin irritation test and eye irritation test in white rabbits, the solution containing 5% PPDA(in saline) were classified as weak irritant but four kinds of commercial hairdyes containing PPDA were proved not to have any irritation. 2. As a result of skin sensitization test in guinea pigs, four kinds of commercial hairdyes were classified as Calss I(weak irritant) but three kinds of commercial hairdyes induced skin sensitization for guinea pig to 5% in test groups. These results indicate that the actual toxicity of commercial hairdyes(four kinds) is negligible. But based on the results of experiment, it is thought that there is possibility of some commercial hairdyes to induce skin sensitization.

**Keywords** □ p-phenylenediamine, hairdye, primary skin irritation test, eye irritation test, skin sensitization

최근 국민소득이 증대되고 생활수준이 향상됨에 따라 일상생활과 관련된 다소비성 식품에 대한 관심이 증대되는 추세에 있다. 특히 미에 대한 욕구가 증가하여 두발용 제품이 폭넓게 사용되고 있다.

19세기 후반 근대화학의 발전에 의하여 합성 산화 원료인 *para-phenylene diamine*(1,4-benzenediamine, 이하 PPDA)이 합성되어 염료로서 사용되었으나 근년 현저한 발전으로 염모제로 상품화되었다. 염모제는 염색성분에 따라 편의상 식물성, 금속성, 식물금속혼합성, 유기합성염모제로 구분할 수 있으나 현재 시판되고 있는 대부분의 염모제가 PPDA를 주성분으로 한 유기합성 염모제이다. PPDA는 산화제,

점착제, 알칼리제, 계면활성제 등 다른 성분 등과 혼합하여 사용되며 다른 종류의 염색성분에 비하여 그 염색효과가 탁월하고 사용방법이 간편한 반면 피부 자극, 안자극, 피부감작성 등의 독성이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> Mathur 등은 PPDA가 적용피부 부위에 히스티민(histamine) 및 과산화지질의 함량을 증가시켰으며 피부각질을 유발하였다고 보고하였다.<sup>2)</sup> Kaisumi imida<sup>3)</sup> 등에 의하면 0.4% PPDA의 rat에 대한 아급성독성시험에서 강한 독성을 나타내었다고 보고하였고 0.1%, 0.05% PPDA의 rat에 대한 만성독성시험에서 독성을 나타내었으나 발암성을 나타내지 않았다고 보고하였다.

PPDA 및 PPDA를 포함한 염모제 조성성분의 피

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

부자극 및 안자극시험에 대하여 많이 보고되어 있다.<sup>4~12)</sup> Lloyd<sup>7)</sup>등에 의하면 PPDA 2.5%수용액(0.5% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 함유, pH 9.0)에서 rabbit에 대한 primary irritation index(P.I.I, 1차 피부자극지수)가 0.3으로 비자극성이라고 보고하였고, Morikawa<sup>10)</sup> 등에 의하면 PPDA 5% ethanol용액에서 rabbit에 대한 P.I.I는 0.78로 약한 자극성이라고 보고하였다. 또한 The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association에서 발간한 International Cosmetic Ingradients Dictionary<sup>12)</sup>에는 PPDA가 rabbit의 눈에 대하여 아주 약한 자극성을 나타낸다고 보고하였다.

PPDA를 함유하는 염모제와 PPDA에 대한 피부감작성 시험에 관하여 많은 보고<sup>11~18)</sup>가 있다. Herve-Bazin 등<sup>9)</sup> PPDA 2%를 함유하는 염색성분에서 기니어피그(guinea pig)에 대하여 감작을 일으키지 않았다고 보고하였고, 0.05%PPDA(in petroleum)는 기니어 피그에 대하여 80%까지 감작을 일으키지 않았다고 보고하였다. 또한 Magaine 등<sup>19)</sup>은 28% PPDA 유도체를 함유하는 염색성분은 기니어피그에 대하여 강한 감작물질이라고 보고하였다. 실험방법, 동물모델에 따라 차이가 있지만 위의 보고들은 농도에 따라서 다양한 자극반응을 보이는 것으로 나타나 있다.

현행 약사법상 염모제중 PPDA성분의 허용량은 3.0%로서 규정되어 있으며 시판품의 경우 색깔에 따라 PPDA함유량이 0.5~3.0%로 함유되어 있으나 실제 사용자에 따라 접촉성 피부염, 눈자극, 알러지 등의 부작용이 유발되는 사례가 있는 실정이다.

따라서 본 연구원에서는 PPDA원료와 시중 시판되고 있는 완제품에 대하여 1차 피부자극성, 눈접막자극성, 피부감작성 시험을 하여 원료 및 제품에 대한 안전성을 재검토하고자 한다.

### 실험 방법

**실험재료**—본 시험에 사용된 시약은 Freund's Adjuvant complete(sigma), p-phenylenediamine(Sigma, 99.0%이상)이고 시험검체는 시중 유통중인 아래의 4종의 완제품을 수거하여 시험하였다.

제품명	A	B	C	D
제형	로션형	액형	크림형	액형
PPDA 함유량(1제)	1.9 g/100 mL	0.125 g/100 mL	1 g/100 g	0.69g/100 mL

시험동물로는 백색토끼와 기니어 피그를 한국실험동물 센터에서 분양받아 사용하였다.

**1차 피부자극성 시험**—건강한 雌雄의 백색토끼(2.5~2.8 kg)를 1군을 6마리로 하여 실험개시 약 24시간 전에 토끼의 등부위 피부의 털을 전기제모기로 가로, 세로 약 10 cm<sup>2</sup>로 토끼의 등부위에 상처가 나지 않도록 깍은 후 제모된 등피부를 좌우로 나누어 한 쪽을 投與區劃, 다른 한쪽을 對照區劃으로 나눈다. 對照區劃과 投與區劃을 각각 건강피부 부위와 찰과피부 부위가 서로 대각선으로 분포하도록 구분하여 2.5×2.5 cm<sup>2</sup>의 건강피부 2개소와 주사기 바늘끝을 이용하여 진피가 손상되지 않을 정도로 상처를 낸 찰과피부 2개소를 만든 후 피검체제 0.5 mL를 취해 투여구획에 0.1 mL를 각 적용피부에 구강투여용 주사기로 도포한 후 나머지 0.4 mL를 가아제 4겹에 적용하여 각 부위에 밴드로 고정시켜 폐쇄시킨다.

투여 24시간 후 폐쇄 팻취를 제거하고 생리식염수로 시험물질이 잔류하지 않도록 가볍게 씻은 후 대조구획의 피부를 대조로 하여 제거 30분후 투여 48시간, 72시간 후에 국소부위의 홍반, 부종, 출혈, 가파형성 등의 변화를 肉眼의으로 관찰하여 Draize의 평판법<sup>20)</sup>(국립보건 안전연구원 예규 제 10호중 안구 병변 등급과 동일기준)에 의하여 판정하였다.

**안점막 자극성 시험**—건강한 자웅의 백색토끼(2.5~2.7 kg)를 실험개시 약 24시간전에 생리식염수로 세정후 2% sodium fluorescein용액을 점안하여 long-wave UV lamp로 토끼의 좌우 안구의 각막, 결막, 홍채 등의 병변상태를 검안한 후 건강한 좌우 양안을 갖고 있는 토끼를 1군(A군 각 6마리, B군 각 3마리)으로 하여 A군은 한쪽눈의 아래눈꺼풀을 안구로부터 멀리 잡아당기어 컵을 형성시킨 후 0.1 mL의 검체를 5분 간격으로 2번 나누어 점안하고, B군은 0.1 mL의 검체를 한번에 점안한 후 20~30초 후 미온생리식염수로 세정한다.

시험물질 투여후 1시간째에 토끼의 눈주위 안구 및 행동을 관찰한 후 24시간, 48시간, 72시간째, 7일째 각막의 혼탁 및 혼탁된 각막의 범위, 홍채의 반응, 결막의 반적, 부종 및 배출물 유무 등을 Draize의 평판법에 의하여 검체를 투여하지 않은 다른쪽 눈을 대조로 하여 판정하였으며, 육안으로 판정이 불가능한 경우에 2% sodium fluorescein을 점안한 후 생리식염수로 세척후 관찰하여 판정하였다.

피부감작성 시험 – 이 실험은 Magnusson 등<sup>21)</sup>의 방법에 따라 실험하였다. 건강한 Hartley계 수컷 기니어 피그(350 g~400 g)를 1군을 20마리로 하여 면도기를 사용하여 경부배측부위 (2 cm×4 cm)의 털을 제거한 후 Table I과 같이 조제한 실험검체를 다음과 같이 처리한다.

Table I—Application of Test article

	1차유도	2차유도	challenge
시험물질	어깨부위에 어깨부위	어깨부위	옆구리 부분
감작군	A,B,C를 0.1 m/씩 각 2 회 피내주사	B를 표피에 적용후 48 시간동안	에 B를 표피 에 적용후 24 시간 적용후
비감작 대조군	saline만 처치	saline만 처치	밀봉 PPDA를 sa line에 녹여 5%로 한 용 액을 처치
음성대조군	saline만 처치	saline만 처치	saline만 처치

조제방법		
A	Freund's complete adjuvant와 종류수 1 : 1 w/w	
B	Sample	
C	Sample을 Freund's complete adjuvant에 유화 시킴	

## 가. 반응의 평가

	classification	score
no reaction		0
scattered mild reaction		1
moderate and diffuse redness		2
intense redness and swelling		3

반응의 평가는 dressings을 제거한 후 24시간 후에

Table II—The P. I. I. of PPDA(1, 2, 3, 4, 5%) in saline

PPDA원료 (in saline)	피부자극 score(6마리 합계)								피부 1차 자극지수(P.I.I.)	
	홍반, 가피				부 종					
	비찰과		찰과		비찰과		찰과			
	72 hr	72 hr	24 hr	72 hr	24 hr	72 hr	24 hr	72 hr		
1%	0	0	1	2	0	0	0	0	0.13	
2%	0	1	1	2	0	0	0	0	0.17	
3%	0	1	2	2	0	0	0	1	0.25	
4%	1	1	3	3	0	1	1	1	0.46	
5%	2	2	4	3	1	1	4	2	0.79	

다음의 기준에 의하여 평가하고 challenge상태의 반응평가에 의한 positive비율로서 등급을 결정한다.

## 나. 등급의 결정

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

## 실험결과 및 고찰

1차 피부 자극성 시험 – 1차 피부자극성 시험 결과 PPDA원료(1~5%)에 대한 1차 피부자극시험의 1차 피부자극계수는 0.13~0.79로 나타났으며 PPDA의 함량이 높을수록 자극계수가 높아지는 경향을 나타내었다.

안전연구원 예규 제 10호 피부반응 평가에 의하면 5% 이상의 농도에서 약한 자극성으로 분류되어 특히 찰과 피부에서 자극이 강한 것으로 나타났다.

완제품 4종의 실험결과는 Table III와 같다. 제품 A와 D에서 0.46으로 비교적 타제품에 비하여 높았으나 안전연구원 예규 제 10호 피부반응 평가에 의하면 자극계수가 모두 0.5 이하로 비자극성 물질로 평가되었으며 PPDA에서와 같이 찰과피부에서 피부자극치가 높게 나타났다.

제품D의 경우 C에 비하여 PPDA함유량이 적으나 반응평가에서 피부 자극치가 높게 나타났고 특히 찰과 피부에서 자극이 높게 나타났다.

피부반응 평가에 있어서 PPDA원료의 경우 보사부 기준인 3%이하 농도에서 비자극성물질로 평가되었으며 완제품의 경우도 비자극성물질로 평가되었으나

**Table III** – The P.I.I. of commercial hairdyes

Test Sample	피부자극 score(6마리합계)								피부일차 자극지수P.I.I.)	
	홍반, 가피				부 종					
	비 찰과		찰과		비 찰과		찰과			
	24 hr	72 hr	24 hr	72 hr	24 hr	72 hr	24 hr	72 hr		
A	1	1	2	3	1	1	1	1	0.46	
B	1	2	1	1	0	0	0	1	0.25	
C	1	1	2	3	0	0	0	1	0.34	
D	1	1	3	3	0	1	1	1	0.46	

**Table IV** – The M.O.I. of PPDA(1,2,3,4,5%) in saline

	Cornea sum	Iris sum	Conjunctiva sum	Total(maximum 110)	M.O.I.
PPDA 1%	0	0	2	2	0.33
2%	5	0	4	9	1.50
3%	10	0	4	14	2.33
4%	15	5	14	34	5.67
5%	25	5	14	44	7.33

**Table V** – The M.O.I. of commercial hairdyes

완제품	Cornea sum	Iris sum	Conjunctiva sum	Total(maximum 110)	M.O.I.
A	10	0	10	20	3.33
B	5	0	4	11	1.83
C	10	0	6	16	2.67
D	10	0	8	18	3.00

일부제품의 경우 찰과피부에서 높은자극치를 나타내었으므로 찰과피부에서 사용은 가급적 피하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

**안점막 자극시험** – PPDA(1~5%)의 안점막 자극 시험 결과 24 hr 후 M.O.I.(평균안자극계수)는 Table IV와 같이 0.33~7.33으로 농도가 높을수록 자극치가 강한 것으로 나타났고 PPDA원료 4% 이상에서 비교적 높은 자극치를 나타내었다.

완제품 4종에 대한 안점막자극 시험결과는 Table V와 같다. 24시간 후 M.O.I가 1.83~3.0으로 안전연구원 예규 제 10호 안점막 자극표에 의하면 모두 무자극물로 분류되었으며 48 hr 이후에 안구병변이 소멸되거나 현저히 감소하였다. A와 D제품이 타제품에 비해 비교적 높은 자극치를 나타내었으나 4종 모두 비교적 낮은 자극치를 나타내었다.

Table VI에서와 같이 PPDA 1~5% 농도에서 48 hr이후에 안구병변이 소멸되는 경향을 나타내었으나 5% 농도에서 48 hr 이후에서 M.O.I가 4.06으로 안전연구원 예규 제 10호 안점막 자극표에 의하면 경

**Table VI** – The evaluation of eye irritation tests

sample	A.O.I.	M.O.I. (48 hr 이후)	평가구분
PPDA 4%	5.67	0	무자극물
5%	7.33	4.06	경도의 자극물
완제품 A	3.33	0	무자극물
B	1.83	0	무자극물
C	2.67	0	무자극물
D	3.00	0	무자극물

도의 자극물로 분류되었다.

PPDA 4% 농도에서 A.O.I(M.O.I의 최대치)가 5.67로 비교적 높았으나 48 hr이후 M.O.I가 0으로 나타나 무자극물로 분류되었다.

**피부감작성시험** – 피부감작성 실험결과는 Table VII과 같다.

CTFA<sup>[2]</sup>에서 발간한 보고서에 의하면 2% PPDA를 포함하는 염모제성분에 대하여 기니어피그 12마리를 사용하여 시험한 결과 한마리도 감작성을 발견할 수 없었다고 보고하였으나 본 실험결과 test group A, C,

**Table VII**—The evaluation of the skin sensitization tests

Group	Sensitization Rate (challenge)	Classification
Control	0%	
A	5%	I
B	0%	I
C	5%	I
D	5%	I

D 각 20마리 중 1마리씩에서 감작반응을 나타내었다. 완제품 B를 제외한 나머지 3종의 challenge에서의 감작비율이 5%로 Magnusson 등에 의하여 제안된 과민화등급(I: weak, II: mild, III: moderate, IV: strong, V: extreme)에 의하면 약한 감작성으로 분류되었다.

반응평가에 의하면 C의 경우 미약한 홍반이 관찰되었으며 A의 경우도 홍반이 관찰되었으나 D의 경우 심한 홍반에서 염증까지의 반응을 발견할 수 있었다.

Magnusson 등<sup>22)</sup>의 등급평가에 의하면 반응개체수의 비율로 등급을 결정하지만 개체의 상태에 따라 감작반응을 유발할 수 있는 가능성을 배제할 수 없다.

Diamine계 화합물이 보통 감작성을 일으키므로 사용전 미리 patch test를 한 후 사용하여야 하며 감작반응이 유발된 사람은 자극이 약한 타염색성분의 제품을 선택하는 것이 바람직 하겠다.

## 결 론

현재 사용되고 있는 염모제 원료 성분으로 사용되고 있는 PPDA는 타 염색성분보다 사용이 간편하고 효과가 좋아 가장 많이 사용되고 있는 반면 사용자에 따라 피부자극, 안자극, 피부 알러지 등의 부작용을 유발할 가능성이 있는 것으로 알려져 있다.

시중 유통중인 제품 4종과 PPDA 1, 2, 3, 4, 5%농도에 대하여 1차 피부자극성, 안점막 자극성, 피부감작성 시험을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 1차 피부자극성 시험결과 PPDA 5% 농도에서 약한 자극성으로 분류되었으며 완제품 4종은 무자극물로 분류되었다.

2. 안점막 자극성 시험결과 PPDA 5%농도에서 경도의 자극물로 분류되었으며 완제품 4종은 무자극물

로 분류되었다.

3. 피부 감작성 시험결과 완제품 4종에서 약한 감작성으로 분류되었다.

이상의 실험결과로 부터 염모제에서 PPDA원료 사용 허용기준 3%는 타당한 것으로 사료된다.

또한 완제품의 毒性에 별문제가 없는 것으로 사료되나 사용자에 따라 피부알러지 등을 유발할 가능성 있으므로 세발시간, 접촉시간, patch test 등 사용방법과 성분에 따른 제품 선택이 중요할 것으로 사료된다.

## 문 헌

- Ishihara, Masaru; Nogami, Tetsunori Itoh, Masa-tashi; Nishimura, Makoto: Sensitization potency of dye intermediaries and modifiers in guinea pigs, Dept. Damatol. Toho Univ., 27(3), 585-90, (1985).
- Mathur, A. K., Gupta, B. N.: Narang, S.; Singh, S.; Mathur, N.; Singh, A.; Shukla, L. T.; Shanker, Ravi: Biochemical and histopathological changes following dermal exposure to paraphenylenediamine in gunea pig, *J. Appl. Toxicol.*, 10(5), 383-6, (1990).
- Kaisumi imida, Yuichi ishihara, Osamu Nishio, Keisuke Nakaniishi and Nobuyuki ito: Carcinogeneity and toxicity tests on para-phenylene-diamine F334 rats, *Toxicology Letter*, 11, p.118-28, (1982).
- Hanzlik, P. J.: The pharmacology of some phenylenediamine, *J. Invest. Hyg.* 4, 386-409, 448, 462, (1923).
- Lloyd, G. K., Liggett, M. P., Kynoch, S. R., and Davies, R. E.: Assement of the acute toxicity and potential irritancy of hair dye constituents, *Food Cosmetic. Toxicol.* 15(6), 607-10, (1977).
- CTEA. (June 1969) Submission of data by CTFA (2-11-100) CIR safty data test summary response form, acute dermal toxicity and primary skin irritation of hair dye containing PPDA in Rabbits, (1969).
- CTFA.(September 16, 1971), Submission of data by CTFA(2-11-28) CIR safty data test summary response form, repeat petch test with hair dye containing PPDA in Rabbits, (1969).
- Davies, R. E., Harper, K. H. and Kynoch, S. R.: Inter

- species variation in dermal reactivity, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **23**(7), 371-81, (1972).
- 9) Herve-Vazin, B., Gradiski, D., Duprat, P., Marignac, B., Foussereau, J., Cavelier, C. and Bieber, P.: Occupational eczema from N-isopropyl-N'-phenylparaphenylenediamine(IPPD) and N-dimethyl-1,3-butyl-N'-phenylparaphenylenediamine(DMPPD) in types, *Contact Dermatitis* **3**, 1-15, (1977).
- 10) Morikawa, F., Fujii, S., Tejima, M., Sugiyama, H. and Uzuka, M.: Safety evaluation of hair cosmetics. In: Toda, K. et al.(eds), *Biology and Disease of hair*. Baltimore, MD: University Park Press, pp. 641-57, (1976).
- 11) Brulos, M. F., Guillot, J. P., Martini, M. C. and Cotte, J.: The influence of perfumes on the sensitizing potential of cosmetic bases. I. A Technique for evaluating sensitizing potential, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **28**, 357-65, (1977).
- 12) CTFA., Submission of data by CTFA(2-11-70) CIR safty data test summary response form, guinea pig skin sensitization with hair dye containing PPDA, (1982).
- 13) Goodwin, B. F. J., Crevel, R. W. R. and Johnson, A. W.: A comparision of three guinea pig sensitization procedures for the detection of 19 reported human contact sensitizers, *Contact Dermatitis* **7**, 248-58, (1981).
- 14) Kleniewska, D., and Maribach, H.: Allergenecity of amino-benzene compounds structure-punction relationships, *Dematoses Beruf Umwelt* **28**(1), 11-3, (1980).
- 15) Magnusson, B. and Kilgman, A. M.: Allergic contact dermatitis in the guinea pig. Identification of contact allergens. Springfield, IL: Charles C Thomas, (1970).
- 16) Maurer, T., Thomann, P., Weirich, E. G. and Hess, R.: Predictive evaluation in animals of contact allergenic potential of medically important substances. II. Comparision of different methods of cutaneous sensitization with weak allergens, *Contact Dermatitis* **5**(1), 1-10, (1979).
- 17) Rajka, G., and Blohm, S. G.: The allergenecity of para-phenylenediamine. II. *Acta Derm. Venereol.* **50**(1), 51-4, (1970).
- 18) Stevens, M. A.: Use of the albino guinea pig to detect the skin sensitizing ability of chemicals, *Br. J. Indust. Med.* **24**(3), 189-202, (1967).
- 19) Maguire, H. C., JR.: The bioassay of contact allergens in the guinea pig, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **24**(3), 151-62, (1973).
- 20) Draize, J. H.: "Dermal toxicity" In: Appraisal of the safety of chemicals in foods, Drug and Cosmetics, Assoc. Food and Drug Officials of the U.S., Austin, Tex., (1959).
- 21) OECD Guidelines for testing of Chemicals: Skin sensitization (Guideline # 406).
- 22) Magnusson, B. and Kligman, A. M.: Allergic contact dermatitis in the guinea pig Charles C Thomas, Springfield, III, (1970).