

헤나염모제 사용 시 로우손의 피부흡수 특성 및 피부보호제의 효과

김주연 · 김배환 · 김승원*
계명대학교 공중보건학과

Skin Absorption of Lawsone in Henna Hair Dye and the Effect of Skin Protectants

Ju Yeon Kim · Bae-Hwan Kim · Seung Won Kim*
Department of Public Health, Keimyung University

ABSTRACT

Objectives: This study evaluated the skin permeability of lawsone in henna hair dyes to understand the exposure characteristics of henna hair dyes in the human body. It examined the protective effects of protectants by applying protectants A, B, and C to test skin.

Methods: Skin absorption tests were conducted using Franz diffusion cells according to OECD test guideline 428. After applying one kind of natural henna hair dye and chemical henna hair dye, respectively, to a standardized pig skin model, samples of receptor fluid were collected at 1h, 3h, 6h, and 24h. The skin permeation of lawsone was determined using HPLC. After the skin absorption experiment, the skin to which hair dye was applied was analyzed to determine the residual amount of lawsone in the skin.

Results: The cumulative permeation of both natural and chemical henna hair dyes increased over time, and the natural henna hair dye had a flux value ($t=3.194$, $p<.05$) high both in the K_p value ($t=3.207$, $p<.05$) and the residual amount ($t=22.701$, $p<.001$). For skin treated with a protectant, the cumulative permeation of natural henna hair dye 24h control and the cumulative permeation of protectant A, B, and C increased over time. Flux and K_p values were in the order control > protectant A > protectant C > protectant B. The residual amount ($F=4.469$, $p<.05$) was in the order of protectant C > protectant A > protectant B > control. At 3h, the dye application time of natural henna hair dye, the lawsone flux value ($F=4.454$, $p<.05$) and K_p value ($F=4.455$, $p<.05$) were higher in the control group than in the protectant groups. The 24h cumulative permeation of the chemical henna hair dye increased with time in both the control and the protectant groups, and the flux and K_p values were in the order of protectant A > protectant C > protectant B > control. The residual amount ($F=7.901$, $p<.01$) was in the order of protectant B > protectant A > protectant C > control.

Conclusions: Within the normal dyeing time for henna hair dye (three hours for natural henna hair dyes and 30 minutes for chemical henna hair dyes) lawsone skin penetration was not observed even when no protective agent was applied. After that time, however, evidence of skin penetration and retention of lawsone and the protective effect of protective agents were observed.

Key words: Chemical henna, natural henna, skin penetration, skin retention

I. 서 론

현대인들의 평균수명 증가와 사회활동 연장으로 인해 젊고 아름다운 외모와 건강한 삶에 대한 관심이 증대되고 있다. 모발은 체온 유지 및 감각작용 등의 인체보호

역할을 하며, 아름다움을 표현하기 위한 장식의 역할도 하고 있다. 이로 인해 모발 색을 개인의 개성과 아름다움을 표현하기 위한 방편으로 다양하게 변화시키며, 이를 위한 방법으로 합성 염모제를 사용하는 인구도 증가하는 추세이다(Patel et al., 2013).

*Corresponding author: Seung Won Kim, Tel: +82-53-580-5197, E-mail: swkim@kmu.ac.kr
1095 Dalgubeol-daero, Dalseo-gu, Daegu 42601, Republic of Korea
Received: May 29, 2021, Revised: June 16, 2021, Accepted: June 26, 2021

 Bae-Hwan Kim <http://orcid.org/0000-0002-5898-0748>

 Seung Won Kim <https://orcid.org/0000-0003-2960-5866>

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.

산화염모제는 다양한 색상과 염색의 지속성 및 사용의 편리성 등의 장점이 있어(Jang et al., 2006) 널리 사용되고 있으며, 염모제의 특성상 인체 접촉과 사용빈도를 고려해 그 성분이 안전해야 한다(Nohynek et al., 2004). 하지만 산화염모제는 알레르기성 접촉피부염, 돌연변이, 암 등의 부작용을 일으킬 수 있으며(Draelos, 1991; Ros et al., 2012; Tai et al., 2016; Zanoni et al., 2017), 강한 알칼리성용액으로 인해 모발의 손상을 일으킬 수 있다(Kim, 2002). 이러한 이유로 천연 염모제에 대한 관심이 증대되고 사용빈도 또한 늘어나고 있다.

헤나는 부처꽃과의 관목 식물인 로소니아 이너미스(Lawsonia inermis)의 잎을 말려 만든 가루이며, 이 식물의 원산지는 이집트이고 네팔, 인도, 파키스탄에서 자란다. 모발염색 및 손톱 장식, 피부 문신의 염료로 사용되어 왔으며(McMillan et al., 2004), 피부나 모발 사용 시 단백질과 결합하여 염색이 이루어진다(Dalglies, 1949). 또한 모발의 광택과 코팅 효과로 모발에 힘과 탄력을 주어 모발 손상을 최소화하며(Choi, 2008), 항균 및 항진균, 항산화 작용으로 비듬, 두피 발진, 가려움증을 개선하는 효과도 있다(Lee, 2004; Lopez et al., 2014). 헤나염모제는 로소니아 이너미스 잎 100%로 이루어진 천연 헤나염모제(natural henna hair dye)와 화학성분을 첨가한 케미컬 헤나염모제(chemical henna hair dye)가 있다. 케미컬 헤나염모제는 염모제의 적용시간을 줄이고 착색 효과를 높이기 위해 p-phenylenediamine, p-aminophenol 등을 첨가하여 사용한다. 유럽, 아시아, 북미 및 인도 피부염 환자의 4.1~11.5%가 p-phenylenediamine으로 인한 알레르기성 접촉피부염에 대해 양성으로 나타났다(Schuttelaar et al., 2016). 이 물질은 피부 장벽 손상 및 염증을 유발할 수 있으며 각질 세포에서 ROS 생성을 유도하여 세포 사멸을 유도할 수 있다(Galbiati et al., 2014; Meisser, 2019). p-Aminophenol은 피부 자극, 피부염, 불안감, 경련, 기관지 천식, 메트헤모글로빈혈증 등을 일으킬 수 있다(Gosseline et al., 1984; Noh & Kim, 2008).

헤나의 염색성은 로소니아 이너미스의 건조된 잎에 0.5~2%의 농도로 함유된 로우손(lawsone, 2-hydroxy-1-4-naphthoquinone)에 의해 이루어진다. 로우손은 나프토퀴논 계통으로 알레르기 반응을 거의 일으키지 않는 것으로 알려져 있다(Sukuroglu et al., 2017). 하지만 Sauriasari et al.(2007)은 연구에서 로우손은 강

한 산화-환원작용을 일으키며 세포독성을 가지고 있다고 밝혔다. 또한 2004년 SCCNFP(The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers)에서 로우손은 피부와 점막에 자극을 일으키는 민감제로 작용할 수 있고 콩팥, 위, 조혈계에 독성이 있기 때문에 안전성이 입증되지 않아 염색제 및 다른 화장품의 성분으로도 적합하지 않다고 제시하였다. 2017년 식품의약품안전처 고시에서도 헤나가루는 염모제로는 사용할 수 있으나 화장품에는 사용할 수 없는 배합금지원료로 분류하고 있다.

2018년 한국소비자원에 신고된 헤나 위해 사례는 2015년 4건, 2016년 11건, 2017년 31건, 2018년 10월 기준 62건으로 급증하였고, 이중 헤나염모제가 105건(97.2%)으로 나타났으며, 연령별로는 40~50대가 52건(73.2%), 성별로는 여성이 98건(90.7%)으로 나타났다. 한 연구에 따르면 헤나염모제를 사용하는 중년 여성에서 얼굴과 목에 색소가 침착하는 색소접촉성 피부염이 발생하였고, 헤어라인 근처에서 발생빈도와 중증도가 더 높게 나타났다(Jeon et al., 2018). 색소 접촉성 피부염은 1970년 Osmundsen이 명명한 질환으로 중년의 여성에서 주로 발생하며 얼굴과 목에 갈색 색소침착이 나타난다(Osmundsen, 1970). 이는 소량의 알레르겐에 반복적으로 노출되어 발생한 경미한 접촉피부염으로 색소 실조증이 나타나며 알레르기 접촉피부염에서 볼 수 있는 습진병변은 나타나지 않는다(Ebihara and Nakayama, 1997). 헤나 사용을 통해 피부에 색소가 침착하는 염색성은 전술한 것처럼 로우손에 의해 이루어지기 때문에 로우손에 대한 피부흡수 특성을 연구하고, 피부흡수를 효과적으로 방지할 수 있는 방법을 찾는 것이 필요하다.

로우손을 포함한 염모제 성분은 모발을 통해 진피층의 피지선 및 모낭까지 흡수되며 진피 결합조직에 있는 혈관과 림프관을 통해 전신순환계로 들어가고, 두피에 도포된 염모제 성분은 표피의 각질층을 통해 진피에 흡수되어 전신순환계로 들어간다(Wolfram and Maibach, 1985; Steiling et al., 2001; Genina et al., 2002). 이러한 이유로 인체 유독성 연구에서 염모제로 인한 림프구의 DNA 손상이 보고되고 있으나(Jo, 2002), 염색 시술 시 염모제의 두피접촉 도포에 비해 두피미접촉 도포방법이 인체 내 산화스트레스를 적게 초래하여 림프구의 DNA 손상이 적은 것으로 나타났다(Kim et al., 2004). 동·식물 기원 물질, 합성 유기물, 미네랄 물질

이나 이들의 혼합물은 피복의 특성이 있어 염색 시 염모제 성분과 두피의 접촉을 방지하거나 제한하는 것이 가능하다(Kalopissis et al., 1983).

In vitro 피부 시험법은 동물 또는 사람의 피부를 이용하여 물질의 피부 흡수도를 측정하며, 사람의 피부에 적용하고자 하는 의약품과 화장품의 개발과정에서 안전성을 평가하거나 피부에 유해하거나 위험한 물질에 대한 독성 평가 실험에 많이 이용되고 있다. In vitro 피부흡수 시험 Guideline 428이 2000년도에 제정되었고, 그 후 이 방법을 이용하는 많은 평가가 세계적으로 이루어지고 있다(OECD, 2004). 시험에 사용하는 피부의 경우 일정한 두께로 자른 피부와 전체 두께의 피부를 사용할 수 있지만, 특별히 필요하지 않은 한 피부 두께 1 mm 이상은 피해야 한다. 사람의 피부를 포함하여 랫드, 돼지피부 등의 사용을 권장하고 있다(Davies et al., 2004). 랫드나 hairless mouse 피부가 실험의 편리성 등을 이유로 많이 사용되지만 사람 피부에 비하여 투과도가 높다. 돼지 피부는 사람과 거의 유사하거나 다소 높은 투과도를 나타낸다고 보고되어 있다(Chilcott et al., 2005). Park et al.(2016)은 다양한 피부 모델을 이용하여 문신염료의 피부 투과성을 실험하였다.

본 연구에서는 표준화된 시판용 돼지피부에 무처리 또는 보호제 3종(Milbon, Loreal, Paimore) 중 하나를 처리한 후 천연 헤나염모제와 케미컬 헤나염모제를 도포하여 OECD(Organization for Economic Cooperation and Development) 시험 가이드라인 428에 따라 Franz diffusion cell을 이용하여 피부흡수 대체 시험을 진행하였다. 염모제 속 로우손의 피부투과량과 피부잔류량을 파악하였고, 보호제 처리에 따른 염모제 속 로우손의 피부흡수량과 피부잔류량을 파악하여 헤나염모제의 피부흡수 노출 평가 및 보호제의 보호효과를 평가하였다. 이를 통해 헤나염모제의 안전성을 파악하고 그 유해성을 줄일 수 있는 대안적 시술 방법의 효능을 평가하여 피시술자의 건강과 안전을 보호하기 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

II. 연구 방법

1. 실험물질

헤나염모제는 시판되고 있는 염모제 중 온라인 판매율이 높은 천연 헤나염모제 3종과 케미컬 헤나염모제 3종을 선택하여 로우손 함량을 분석 후, 그 중 로우손 함량이 높은 천연 헤나염모제와 케미컬 헤나염모제 각각

Table 1. Ingredients of skin protectants

| Skin protectant | Ingredients |
|-----------------|--|
| A | Petroleum distillates, hydrogenated polyisobutene, olive oil, diethoxyethyl succinate, stearyl glycyrrhetinate |
| B | Water, cetearyl alcohol, polysorbate 21, cetareth-25, phenoxy ethanol, chlorhexidine digluconate |
| C | Mineral oil, cyclomethicone, squalene, tocopherol |

1종씩을 선택하여 실험을 진행하였다. 염모제 속 로우손 함량 분석은 헤나염모제 0.03 g을 water(0.01% TFA) : acetonitrile 3:1의 용매 100 mL와 혼합한 후 1시간 동안 sonication하였다. 혼합액 1 mL를 실린지 필터를 이용하여 불용성의 물질을 제거하고, 필터한 혼합액을 mass vial에 담아 HPLC로 분석하였다. 로우손 함량은 아래 식을 이용하여 계산하였다. 각 제품의 로우손 함량은 각각 0.62% 및 0.55%였다.

$$\text{로우손함량}(\mu\text{g/g}) \quad \langle \text{식 1} \rangle$$

$$= \frac{\text{염모제의로우손피크값} - y\text{절편}}{\text{기울기}} \times \frac{10^6}{\text{시험물질의농도(ppm)}}$$

보호제는 오픈마켓 판매율이 높은 3종을 선택하였고, 각 성분은 Table 1에 정리하였다. 보호제 적용량은 유사한 제형의 제품인 화장품 로션(cosmetic lotion)을 참고하여 결정하였다. 식품의약품안전평가원(2011)에서 제시한 1회 로션 사용량을 기준으로 설정하였고, 아래 식으로 계산한 결과 본 실험에는 3 mg을 적용하였다.

$$\text{보호제양(mg)} \quad \langle \text{식 2} \rangle$$

$$= 1\text{회로션사용량(mg)} \times \frac{\text{실험에 적용된 피부면적}(\text{cm}^2)}{\text{얼굴면적}(\text{cm}^2)}$$

2. 피부흡수 실험

전체적인 실험 디자인은 OECD 시험 가이드라인 428을 따라 구성되었다(OECD, 2004). Franz diffusion cell에 무처리 또는 보호제 3종 중 하나를 처리한 피부를 장착하였다. 헤나염모제(천연 헤나염모제, 케미컬 헤나염모제)와 물을 1:3의 비율로 혼합한 0.1 g을 0.785 cm² 피부에 적용하였다.

피부흡수 노출 실험은 Lap fine(Ilsan, Korea)의

Franz diffusion cell을 사용하여 진행하였다. Franz diffusion cell은 static diffusion cell 형태로, 내경이 10 mm이고 장치 자체의 온도와 stirrer의 회전속도 (revolution per minute, rpm) 조절이 가능하다. In vitro 피부흡수 연구방법으로 Franz diffusion cell method는 시험물질이 피부를 통과하여 이동하는 양을 측정하는 실험 방법으로 시험물질에 대해 반복 측정이 가능하여 약물 투과특성을 평가하는데 이점을 제공한다 (OECD, 2004).

피부는 6개월령 Micropig의 등에서 적출한 표피와 진피가 있는 두께 300 μm, 넓이 1.5 × 1.5 cm의 표준화된 돼지피부를 (주)아퓨어스(Pyeongtaek, Korea)로부터 구입하였다. 실험 전까지 -20℃의 냉동고에 보관하였고, 상온에서 천천히 녹여 실험에 사용하였다. 돼지피부의 각질층에 보호제를 처리한 후 Franz diffusion cell의 donor chamber와 receptor chamber 사이에 피부의 각질층이 위쪽으로 오도록 고정하였다. Receptor chamber에는 receptor fluid (ethanol/distilled water 1:1) 5 mL를 주입하였다. Donor chamber에 적용되는 0.785 cm²에 시험물질(염모제 : 증류수 = 1 : 3) 0.1 g을 적용한 후 뚜껑을 닫았다. 온도는 32 ± 1℃, 습도는 30~70%를 유지하였으며 마그네틱 바의 회전속도는 800 rpm으로 설정하였다(Table 7). 실험 시작 후 1, 3, 6, 24시간에 micropipette 또는 syringe를 이용하여 sampling port를 통해 1 mL의 receptor fluid를 시료로 채취하고 receptor fluid 원액 1 mL를 보충하였다. 채취한 샘플은 분석 전까지 -80℃에 보관하였다.

피부투과 실험 종료 후 피부 윗부분의 시험물질을 ethanol/distilled water (1:1)로 닦아낸 후 Franz diffusion cell 실험에서 시험물질이 적용된 피부 면적만 잘라내어 ethanol/distilled water (1:1) 1 mL를 주입하였다. 시험물질 추출을 위해 32℃ 소니케이트에



Figure 1. Franz diffusion cell with pig skin

서 1시간 동안 초음파 처리 후 부유해 있는 피부 조직을 가라앉히기 위해 5000 rpm에서 5분간 원심분리하고 24시간 동안 방치하였다. Syringe filter(0.2 μm)를 이용하여 0.5 mL의 시료를 여과하고, 추출 시료는 분석 전까지 -80℃에서 보관하였다.

3. 로우손 분석

시료를 분석하기 위한 장비는 HPLC(high performance liquid chromatography; Waters Alliance 2695, US)을 사용하였고, 칼럼은 Agilent zorbax C18(150×4.6 mm, 5 μm, Agilent Technologies, US)을 사용하였다. 이동상은 trifluoroacetic acid(TFA)가 0.01% 첨가된 water와 acetonitrile을 3:1의 비율로 사용하였으며, 칼럼의 유속은 0.5 mL/min, 분석 시간은 24분으로 하였다 (Table 2). 분석물질인 로우손 표준품은 Sigma-Aldrich (Seoul, Korea)로부터 구입하여 사용하였다.

Table 2. Analytical conditions of HPLC

| Parameter | Conditions |
|------------------|---------------------------------------|
| Column | Agilent Zorbax C18 (150×4.6 mm, 5 μm) |
| Flow rate | 0.5 mL/min |
| Injection volume | 10 μL |
| UV detection | 2998 PDA detector (210~400 nm) |
| Run time | 24 min |
| Solvent | Water (0.01% TFA) : acetonitrile 3:1 |

4. 피부흡수 특성치 계산

로우손의 피부투과량은 시간에 따라 채취한 시료의 투과량을 합산해 전체적으로 누적된 투과량을 추정하였으며 아래 식을 이용하여 매시간별 누적 투과량을 계산하였다.

$$1h = \frac{1h\text{로우손피크값} \times 5}{\text{피부면적}} \quad \langle \text{식 3} \rangle$$

$$3h = \frac{3h\text{로우손피크값} \times 5 + 1h\text{로우손피크값} \times 1}{\text{피부면적}} \quad \langle \text{식 4} \rangle$$

$$6h = \frac{6h\text{로우손피크값} \times 5 + 3h\text{로우손피크값} \times 1 + 1h\text{로우손피크값} \times 1}{\text{피부면적}} \quad \langle \text{식 5} \rangle$$

$$24h = \frac{24h\text{로우손피크값} \times 5 + 6h\text{로우손피크값} \times 1 + 3h\text{로우손피크값} \times 1 + 1h\text{로우손피크값} \times 1}{\text{피부면적}} \quad \langle \text{식 6} \rangle$$

Flux($\mu\text{g}/\text{hr} \cdot \text{cm}^2$)값은 단위시간당 일정한 피부 넓이를 통과하는 시료의 양으로 아래 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Flux} = \left(\frac{1h\text{투과량}}{1h} + \frac{3h\text{투과량}}{3h} + \frac{6h\text{투과량}}{6h} + \frac{24h\text{투과량}}{24h} \right) \div 4 \quad \langle \text{식 7} \rangle$$

K_p 값은 투과계수를 의미하며 flux 값을 물질 초기 농도로 나눈 값으로 아래 식을 이용하여 계산하였다.

$$K_p = \frac{\text{Flux}}{\text{염모제의로우손함량}(\%)} \quad \langle \text{식 8} \rangle$$

로우손의 피부잔류량은 피부투과 실험종료 후 피부에 남은 양으로 <식 9>을 이용하여 계산하였다.

$$\begin{aligned} \text{피부잔류량}(\mu\text{g}/\text{mL}) &= \quad \langle \text{식 9} \rangle \\ &= \frac{\text{염모제의로우손피크값} - y\text{절편}}{\text{기울기}} \times \frac{1000}{\text{시험물질의농도}(\text{ppm})} \end{aligned}$$

5. 자료처리

SPSS 프로그램을 이용하여 자료 분석을 시행하였다. 천연 헤나염모제와 케미컬 헤나염모제의 로우손 피부투과 및 피부잔류 차이에 대해 독립표본 t-test를 실시하

였고, 피부보호제 처리에 따른 차이에 대하여 일원 배치 분산분석(one-way ANOVA)을 시행하였으며, 사후검정은 Duncan's multiple range test를 이용하였다. 본 연구의 통계학적인 유의성 검증은 $p < .05$ 을 기준으로 수행하였다.

III. 결 과

1 헤나염모제의 누적투과량

피부에 헤나염모제를 24시간 동안 적용한 로우손의 누적투과량은 Table 3과 같았다. 천연 헤나염모제는 1h, 케미컬 헤나염모제는 6h부터 로우손의 투과가 검지되었으며, 천연 헤나염모제와 케미컬 헤나염모제 모두 시간이 지남에 따라 누적투과량이 증가하였고, 천연 헤나염모제가 케미컬 헤나염모제에 비해 투과량이 35배 많은 것으로 나타났다.

천연 헤나염모제와 케미컬 헤나염모제의 로우손 flux 값과 K_p 값은 Table 4와 같았다. 두 특성치 모두 천연 헤나염모제와 케미컬 헤나염모제간의 유의한 차이를 보였다($t=3.194, p < .05; t=3.207, p < .05$). Flux 값 평균 비교 결과 천연 헤나염모제($M=4.78$)가 케미컬 헤나염모제($M=0.1$)에 비해 48배 더 높은 것으로 평가되었다. K_p 값 평균 비교 결과 천연 헤나염모제($M=8.63$)가 케미컬 헤나염모제($M=0.14$)에 비해 더 높게 평가되었다. 계산된 헤나염모제의 K_p 값을 적용하여 Marzulli의 정의에 따라 판단하였을 때 천연 헤나

Table 3. Cumulative amounts of lawsone over 24h by henna hair dye

| Henna hair dye | N | Amount of lawsone ($\mu\text{g}/\text{g}$) | | | |
|----------------|---|--|-----------------|------------------|-------------------|
| | | 1h | 3h | 6h | 24h |
| Natural | 3 | 3.58 \pm 0.21 | 6.57 \pm 0.13 | 31.54 \pm 1.52 | 194.19 \pm 8.34 |
| Chemical | 3 | ND | ND | 1.22 \pm 0.09 | 5.54 \pm 0.15 |

Table 4. Flux values, K_p values and residual amounts of lawsone over 24h by henna hair dye

| Henna hair dye | N | Flux ($\mu\text{g}/\text{hr} \cdot \text{cm}^2$) | K_p ($\text{cm}/\text{hr} \cdot 10^{-4}$) | Amount of lawsone ($\mu\text{g}/\text{mL}$) |
|-------------------|---|--|---|---|
| | | Mean \pm S.D | Mean \pm S.D | Mean \pm S.D |
| Natural | 3 | 4.78 \pm 2.54 | 8.63 \pm 4.58 | 9.66 \pm 0.62 |
| Chemical | 3 | 0.10 \pm 0.12 | 0.14 \pm 0.17 | 0.74 \pm 0.27 |
| <i>t</i> | | 3.194 | 3.207 | 22.701 |
| (<i>p</i> value) | | (.033) | (.033) | (.000) |

염모제는 'moderate', 케미컬 헤나염모제는 'slow'로 투과도를 판단할 수 있었다(Barber et al. 1995).

피부에 헤나염모제를 24시간 동안 적용한 후 피부에 남아있는 로우손 잔류량은 Table 4와 같았다. 천연 헤나염모제와 케미컬 헤나염모제간의 유의한 차이를 보였으며($t=22.701$, $p<.001$), 평균 비교 결과 천연 헤나염모제($M=9.66$)가 케미컬 헤나염모제($M=0.74$)에 비해 잔류량이 더 높은 것으로 평가되었다.

2 천연 헤나염모제 적용시 보호제 적용 효과

로우손 누적투과량은 Table 5와 같았다. 모든 실험군이 시간이 지남에 따라 누적투과량이 증가하였고, 무처리에 비해 보호제 A는 투과량이 많았고 보호제 B와 보호제 C는 투과량이 적은 것으로 나타났다.

로우손 flux 값은 Table 6과 같았다. 무처리 > 보호

제 A > 보호제 C > 보호제 B 순으로 나타났으며, 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 로우손 K_p 값은 무처리 > 보호제 A > 보호제 C > 보호제 B 순으로 나타났으며, 통계적으로 유의한 차이는 없었다. K_p 값을 적용하여 Marzulli의 정의에 따라 판단하였을 때 모든 실험군이 'moderate'로 투과도를 판단할 수 있었다(Barber et al. 1995).

3. 케미컬 헤나염모제 적용시 보호제 적용 효과

로우손 누적투과량은 Table 7과 같았다. 모든 실험군이 시간이 지남에 따라 누적투과량이 증가하였고, 무처리군은 6h, 보호제 처리군은 3h부터 투과가 검지되었다.

로우손 flux 값, K_p 값, 잔류량은 Table 8과 같았다. 보호제 A > 보호제 C > 보호제 B > 무처리 순으로 나

Table 5. Cumulative amounts of lawsone over 24h for natural henna hair dye by skin protectant

| Group | N | Amount of lawsone ($\mu\text{g/g}$) Mean \pm S.D | | | |
|--------------|---|---|-----------------|------------------|--------------------|
| | | 1h | 3h | 6h | 24h |
| Control | 3 | 3.58 \pm 0.21 | 6.57 \pm 0.13 | 31.54 \pm 1.52 | 194.19 \pm 8.34 |
| Protectant A | 3 | ND | 4.59 \pm 0.73 | 28.39 \pm 0.24 | 214.20 \pm 18.21 |
| Protectant B | 3 | ND | 1.86 \pm 0.28 | 18.26 \pm 0.79 | 136.86 \pm 14.32 |
| Protectant C | 3 | ND | 4.76 \pm 0.91 | 24.05 \pm 7.08 | 169.74 \pm 25.27 |

Table 6. Flux values and K_p values of lawsone over 24h for natural henna hair dye by skin protectant

| Group | N | Flux ($\mu\text{g/hr} \cdot \text{cm}^2$) | K_p ($\text{cm/hr} \cdot 10^{-4}$) |
|-------------------------------|---|---|--|
| | | Mean \pm S.D | Mean \pm S.D |
| Control | 3 | 4.78 \pm 2.54 | 8.63 \pm 4.58 |
| Protectant A | 3 | 3.80 \pm 3.95 | 6.86 \pm 7.13 |
| Protectant B | 3 | 2.34 \pm 2.60 | 4.23 \pm 4.69 |
| Protectant C | 3 | 3.17 \pm 3.08 | 5.72 \pm 5.57 |
| <i>F</i> (<i>p</i> value) | | .333 (.802) | .333 (.802) |

Table 7. Cumulative amounts of lawsone over 24h for chemical henna hair dye by skin protectant

| Group | N | Amount of lawsone ($\mu\text{g/g}$) Mean \pm S.D | | | |
|--------------|---|---|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 1h | 3h | 6h | 24h |
| Control | 3 | ND | ND | 1.22 \pm 0.09 | 5.54 \pm 0.15 |
| Protectant A | 3 | ND | 1.86 \pm 0.11 | 3.12 \pm 0.03 | 6.07 \pm 0.39 |
| Protectant B | 3 | ND | 1.17 \pm 0.02 | 1.60 \pm 0.07 | 3.46 \pm 0.64 |
| Protectant C | 3 | ND | 0.99 \pm 0.00 | 2.13 \pm 0.20 | 3.83 \pm 0.31 |

Table 8. Flux values of lawsone over 24h for chemical henna hair dye by skin protectant

| Group | N | Flux ($\mu\text{g/hr} \cdot \text{cm}^2$) Mean \pm S.D | K_p ($\text{cm/hr} \cdot 10^{-4}$) Mean \pm S.D | Amount of lawsone ($\mu\text{g/mL}$) Mean \pm S.D |
|-------------------------------|---|---|--|--|
| Control | 3 | 0.10 \pm 0.12 | 0.14 \pm 0.17 | 0.74 \pm 0.27 ^a |
| Protectant A | 3 | 0.35 \pm 0.28 | 0.46 \pm 0.37 | 0.87 \pm 0.11 ^b |
| Protectant B | 3 | 0.20 \pm 0.17 | 0.26 \pm 0.22 | 1.35 \pm 0.15 ^c |
| Protectant C | 3 | 0.21 \pm 0.17 | 0.28 \pm 0.22 | 1.18 \pm 0.10 ^{bc} |
| <i>F</i> (<i>p</i> value) | | .873 (.494) | .784 (.535) | 7.901 (.009) |

타났으며, 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 로우손 K_p 값은 보호제 A > 보호제 C > 보호제 B > 무처리 순으로 나타났으며, 통계적으로 유의한 차이는 없었다. K_p 값을 적용하여 Marzulli의 정의에 따라 판단하였을 때 무처리와 보호제 A, B, C 모두 'slow'로 투과를 평가할 수 있었다(Barber et al. 1995). 로우손 잔류량은 보호제 B > 보호제 C > 보호제 A > 무처리 순으로 나타났으며, 통계적으로 유의한 차이가 있었다($F=7.901$, $p<.01$).

IV. 고 찰

모발의 색은 개인의 이미지에 많은 영향을 미치며 모발의 색을 변화시키는 염모제는 세계 시장에서 가장 중요한 화장품 중 하나이다(Ozbek and Akman, 2016). 염모제로 가장 널리 사용되는 산화염모제는 표피손상 및 피부장벽손상과 염증을 유발하고(Zanoni et al., 2017), *p*-phenylenediamine의 산화반응으로 피부감작제인 Bandrowski's 염기의 돌연변이성 물질을 생성한다(Ghosh and Sinha, 2008). 식물성염모제인 헤나는 합성염모제에 비해 독성과 알레르기 반응이 적으며(Kirkland and Marzin, 2003), 모발 손상도 적게 초래하여 사용 빈도가 늘고 있다(Kim, 2018). 하지만 헤나의 주된 염색성분인 로우손은 활성산소 발생으로 인한 세포 손상을 유발한다고 보고되었고(Sauriasari et al., 2007; Jordao et al., 2015), 헤나염모제로 인한 색소침착성 피부염도 보고되고 있다(Lee et al., 2016; Jeon et al., 2018).

사람은 생활환경 속에서 화장품과 위생용품 및 청소용품 등의 형태로 다양한 화학물질을 접하고 있고(Maibach, 2010), 피부는 일상생활에서 접촉하는 화학물질로부터 신체를 보호하는 역할을 한다(Meisser,

2019). 화학물질의 피부투과는 분자량, 화학구조, 분배계수, 극성/비극성, 유동성, 적용 용매의 성격에 따라 다르게 나타나며 반극성 물질은 각질을 쉽게 투과해 표피와 진피로 투과된다(Mavon et al., 2007). 피부는 표피와 진피, 피하조직으로 구성되어 있고 땀샘과 모공이 표피부터 진피까지 관통하고 있다. 따라서 화학물질의 피부흡수는 표피층의 경로와 땀샘 및 모공의 피부 부속기관 경로를 이루어진다(Moser et al., 2001).

본 연구에서는 헤나염모제 속 로우손의 유해성을 평가하기 위해 피부 모델에 헤나염모제를 적용하였다. 그 결과 천연 헤나염모제와 케미컬 헤나염모제 모두 시간이 지날수록 누적투과량이 증가하는 것으로 나타났으며, 천연 헤나염모제가 케미컬 헤나염모제보다 35배 높게 나타났다. 또한 flux 값($t=3.194$, $p<.05$)과 K_p 값($t=3.207$, $p<.05$)도 천연 헤나염모제가 케미컬 헤나염모제보다 높게 나타났으며, 계산된 K_p 값을 기준으로 Mazulli의 정의에 따라 판단하였을 때 천연 헤나염모제는 'moderate', 케미컬 헤나염모제는 'slow'로 투과성 수준이 판단되었다. 천연 헤나염모제에 비해 케미컬 헤나염모제의 낮은 투과량은 로우손의 산성의 성질이 케미컬 헤나염모제 속 염기와 salt를 형성하여 피부투과가 적을 것으로 예측된다(Joshi et al., 1977). 또한 헤나염모제 속 로우손은 주로 glycosidic bond로 이루어져 있고, glycosidic hennosids의 가수분해 효소나 자동산화에 의해 로우손으로 분리되므로(SCCP, 2005) 용매에 따른 용해도의 차이도 있을 것으로 생각된다. Kraeling 등(2007)의 연구에서는 로우손의 피부투과가 6시간까지는 증가하고 이후 투과량은 줄어드는 것에 비해 본 연구에서는 6시간 이후에도 투과량이 증가하였다. Kraeling et al.(2007)의 연구에서는 24시간 후 피부투과율이 0.3~1.4%로 나타났으며, SCCP(2005)의 연구에서는 24시간 후 피부투과율이 0.28%

로 나타났다. 두 연구에서는 헤나염모제 피부 적용 후 각각 1시간(Kraeling et al., 2007) 및 30분(SCCP, 2005) 후 염모제를 씻어낸 다음 피부투과량을 측정하였지만, 본 연구에서는 로우손의 flux 값과 K_p 값을 구하기 위해 24시간 동안 피부 위에 염모제를 적용하여 연구방법에서 차이가 있었다. 피부잔류량은 케미컬 헤나염모제가 천연 헤나염모제보다 유의하게 낮았다 ($t=22.701$, $p<.001$). 이는 천연 헤나염모제가 케미컬 헤나염모제보다 투과계수가 높아 피부투과와 피부잔류가 높은 것으로 생각되며, 케미컬 헤나염모제 속 로우손은 실험 종료 후 피부 위에 남은 염모제 속에 더 많을 것으로 생각된다.

김영철 등(2004)의 연구에서 염색 시 두피미접촉 도포가 두피접촉 도포에 비해 항산화 효소의 활성이 높고, 림프구의 DNA 손상이 적게 나타나 염색 시술 방법에 따라서 염모제에 대한 피부 노출을 조절하여 염모제의 위험성(risk)이 달라지는 것을 알 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 합성 유기물 또는 미네랄 물질의 피복 특성을 이용하여 염모제의 피부접촉을 제한할 수 있다는 Kalopissis 등(1983)의 연구를 바탕으로 피부에 보호제 처리를 한 후 헤나염모제를 적용하여 로우손의 피부투과를 파악하고 보호제의 효과를 평가하였다.

천연 헤나염모제를 각각 무처리와 보호제 A, B, C 처리한 피부에 24시간 적용하였을 때 모든 처리군이 시간이 지남에 따라 누적투과량이 증가하는 것으로 나타났고, 보호제 A > 무처리 > 보호제 C > 보호제 B 순으로 투과량이 나타났다. 하지만 무처리는 1시간부터 투과가 나타나는 것에 비해 보호제 처리군은 3시간부터 투과가 나타나 보호제가 천연 헤나염모제의 로우손 피부투과를 지연시키는 효과를 확인하였다. 케미컬 헤나염모제는 각각 무처리와 보호제 A, B, C 처리한 피부에 24시간 적용한 결과 모든 처리군이 시간이 지남에 따라 누적투과량이 증가하는 것으로 나타났지만, 무처리군은 6h부터, 보호제 처리군은 3h부터 로우손 피부투과가 나타나 천연 헤나염모제와 달리 보호제 처리군의 피부투과가 더 빨리 나타나는 것을 볼 수 있었다. 이는 케미컬 헤나염모제의 성분은 Log Po/w 값이 낮아 로우손의 투과가 지연되었으나, 보호제의 Log Po/w 값은 높아 로우손의 투과가 촉진된 것으로 추정된다.

염모제의 염색 적용시간을 고려하여 로우손을 피부투과를 평가하였을 때 천연 헤나염모제의 적용시간 3시간을 기준으로 로우손의 투과가 나타났고, 케미컬 헤나염

모제는 염색 적용시간인 30분 기준으로 로우손 투과가 나타나지 않았다. 이는 Jeon et al.(2018)의 연구에서 헤나염모제의 색소접촉성피부염은 순수한 헤나염모제에서 발생한다는 의견을 뒷받침해 준다. 천연 헤나염모제의 염색 적용시간을 기준으로 보호제를 처리한 실험군에서 무처리 실험군에 비해 flux 값($F=4.454$, $p<.05$)과 K_p 값($F=4.455$, $p<.05$)이 유의하게 낮은 것으로 나타났다. 따라서 천연 헤나염모제에서 보호제의 보호효과가 있는 것을 알 수 있었다.

보호제 처리 시 로우손의 피부잔류량은 천연 헤나염모제는 보호제 C > 보호제 A > 보호제 B > 무처리 순으로 나타났으며($F=4.469$, $p<.05$), 케미컬 헤나염모제는 보호제 B > 보호제 C > 보호제 A > 무처리 순으로 나타났으며($F=7.901$, $p<.01$), 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 천연 및 케미컬 헤나 모두에서 무처리 피부에 비해 보호제 적용 피부에서 로우손 피부잔류량이 크다는 것은 피부로 투과된 보호제의 성분에 의해 로우손이 혈액 등 체액으로 이동하는 것이 일정정도 방해받았다고 해석될 수 있다. 그 기전을 밝히거나 인체에서도 같은 효과가 있을 것을 추정하는 것은 이 연구의 범위를 벗어난다.

피부의 구조는 복잡하게 이루어져 물질 확산의 장벽 기능을 하고 있다(Simon and Maibach, 2000). In vitro 시험법은 화장품 개발과 피부에 유해한 위험물질을 평가하기 위해 많이 이용되고 있으며, 피부투과는 각질층이 주된 확산장벽으로 작용하므로 대사 활성이 없는 적출된 피부도 가능하다(Han et al., 2009). 하지만 물질의 피부흡수는 피부의 상태와 연령, 부위, 병변 등의 영향을 받으며(Pappinen et al., 2007), 염색과 같은 반복적 노출은 염색 시술 주기 및 빈도에도 영향을 받을 것으로 예측되나 이 점은 반영되지 않았으며, 헤나염모제의 제조사나 헤나의 원산지에 따른 차이도 배제되어 한계점으로 남는다.

V. 결 론

본 연구에서는 헤나염모제 속에 포함된 로우손의 피부노출 특성을 조사하였고 동물(돼지) 피부 모델을 이용한 피부보호제 성능 실험을 통하여 로우손의 피부 투과량과 잔류량을 조사하였다.

연구 결과를 종합해보면, 실험에 사용된 피부보호제는 24시간 실험에서 로우손의 피부투과를 지연하는 효

과를 나타내었다. 다만, 헤나염모제의 권장 염색시간(천연 헤나염모제 3시간, 케미컬 헤나염모제 30분)을 고려하였을 때 이 범위 안에서는 로우손 피부투과가 거의 나타나지 않아 보호제의 사용을 통해 유의미한 제어효과를 얻기 힘들 것으로 예측되었다. 실험에 있어 피부상태와 염색주기 등에 따라 피부투과 특성이 달라질 것으로 생각되나 이 점들에 대한 고려는 본 연구에서 배제되었다. 생체실험이 아니었기 때문에 이 연구결과를 현실에 적용하는 것에는 한계가 존재한다. 그럼에도, 로우손의 피부투과와 잔류에 대한 국내 학계 최초의 실험결과를 제시하였으며, 이로 인해 궁극적으로 안전한 염색 기술로 인한 소비자 보호에 기여할 것으로 기대된다.

References

- Barber ED, Hill T, Schum DB. The percutaneous absorption of hydroquinone (HQ) through rat and human skin in vitro. *Toxicol Lett.* 1995;80:167-172.
- Chilcott RP, Dalton CH, Hill I, Davison CM, Blohm KL, Clarkson ED, Hamilton MG. In vivo skin absorption and distribution of the nerve agent VX (O-ethyl-S-[2(diisopropylamino)ethyl] methylphosphonothioate) in the domestic white pig. *Hum Exp Toxicol.* 2005; 24: 347-352.
- Cho JA. Change of DNA damage before and after hair dyeing. Master thesis, Korea University. 2002.
- Choi WH. Effect of Oxidative Dyeing and Natural Dyeing on Hair-Focused on low-alkaline hair dye and henna. Master thesis, Daejeon University, Graduate School of Health and Sports. 2008.
- Dalgies, CE. Naphthoquinone antimalarials. Mannich bases derived from Lawsone. *J Am Chem Soc.* 1949;71:1697-1702.
- Davies DJ, Ward RJ, Heylings JR. Multi-species assessment of electrical resistance as a skin integrity marker for in vitro percutaneous absorption studies. *Toxicol In Vitro.* 2004;18(3):351-358.
- Draeos ZK. Hair cosmetics. *Dermatol Clin.* 1991;9: 19-27.
- Ebihara T, Nakayama H. Pigmented contact dermatitis. *Clin Dermatol.* 1997;15:593-599.
- Food and Drug Safety Evaluation Institute. Cosmetic risk assessment, exposure is the key!. 2011.
- Galbiati V, Papale A, Galli CL, Marinovich M, Corsini M. Role of ROS and HMGB1 in contact allergen-induced IL-18 production in human keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2014;134(11):2719-2727.
- Genina EA, Bashkatov AN, Sinichkin YP, Kochubey VI, Lakodina NA, Altschuler GB, Tuchin VV. In vitro and in vivo study of dye diffusion into the human skin and hair follicles. *J Biomed Opt.* 2002;7(3):471-477.
- Ghosh P, Sinha A. Hair colors: classification, chemistry and a review of chromatographic and electrophoretic methods for analysis. *Anal Lett.* 2008;41:2291-2321.
- Gosselin RE, Smith RP, Hodge HC. *Clinical toxicology of commercial products.* Baltimore: Williams & Wilkins Press. 1984;pp1226,1227,1333,1335.
- Han JH, Seok SH, Baek MW, Kim DJ, Na YR, Park GR, Son KH, Joo JH, Im CH, Park JH. Skin Absorption Test According to OECD Guideline 428 Using Human and Porcine Skin. *Journal of Alternatives to Animal Experiments.* 2009;3(1):31-35.
- Jang MH, Kim IS, Oh HJ, Choi CN. Characteristics of hair dyed with Safflower extract. *he Korean Society Of Beauty And Art Journal.* 2006;7:217-224.
- Jeon HW, Lee JB, Lee SC, Won YH, Yun SJ. Clinicopathological Analysis of Pigmented Contact Dermatitis Caused by Henna Dyeing. *Korean Journal of Dermatology.* 2018;56(3):161-166.
- Joshi KC, Singh P, Singh G. Juglone and lawsone as acid-base indicators. *Z Naturforsch B.* 1977;32: 890-892.
- Jordao AK, Vargas MD, Pinto AC, Silva FC, Ferreira VF. Lawsone in organic synthesis. *RSC Adv.* 2015;5: 67909-67943.
- Kalopissis G, Gallien J, Jacquet B, Bauer D, Chalaye JP. Hair-dyeing process involving protection of the scalp. *United States Patent.* 1983.
- Kim JC. Changes in the microstructure of the hair cortex and cortex of hair treated with henna hair dye. Master thesis, Keimyung University, Graduate School. 2018.
- Kim YC, Sim MJ, Kwon JS. Effects of Hair Dyeing Application on the DNA Damage in Human Lymphocytes. *Journal of Environmental Toxicology.* 2004;3:101-107.
- Kim YC, Sim MJ, Kwon JS. Comparison of Oxidative Stress in Red Blood Cells Induced by Hair Dyeing Application to Young Women. *Journal of Environmental Toxicology.* 2004;6:153-159.
- Kim YK. Morphological change of hair due to dyeing and bleaching. Master thesis, Daegu Catholic University, Graduate School of Design. 2002.
- Kirkland D, Marzin D. An assessment of the genotoxicity of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone, the natural dye ingredient of Henna. *Mutat Res.* 2003;537:183-199.
- Korea Consumer Agency. Analysis of harmful cases

- related to henna hair dye and tattoo dye. 2018.
- Kraeling ME, Bronaugh RL, Jung CT. Absorption of lawsone through human skin. *Cutan Ocul Toxicol*. 2007;26:45-56.
- Lee EW. Hair coloring using natural dyes – Focusing on color and treatment effect. Master thesis, Jungang University, Graduate School of Medicine and Food. 2004.
- Lee YB, Park SM, Kim JW, Yu DS. Combination treatment of low-fluence Q-switched Nd:YAG laser and oral tranexamic acid for post-inflammatory hyperpigmentation due to allergic contact dermatitis to henna hair dye. *J Cosmet Laser Ther*. 2016;18:95-97.
- Lopez LI, Flores SD, Belmares SY, Galindo S. Naphthoquinones: biological properties and synthesis of lawsone and derivatives—a structured review. *Vitae*. 2014;21(3):248-258.
- Maibach HI. The third edition of anton de Groot's patch Testing: Test Concentrations and Vehicles for 4350 Chemicals. *Dermatitis*. 2010;21(6):336-336.
- Mavon A, Miquel C, Lejeune O, Payre B, Moretto P. In vitro percutaneous absorption and in vivo stratum corneum distribution of an organic and a mineral sunscreen. *Skin Pharmacol Physiol*. 2007;20(1):10-20.
- McMillan DC, Sarvate SD, Oatis JE, Jr, Jollow. Role of oxidant stress in lawsone-induced hemolytic anemia. *Toxicol Sci*. 2004;82:647-655.
- Meisser SS. Allergic Contact Dermatitis to para-phenylenediamine and the immunology involved. Ph.D. diss., Graduate School of Health and Medical Sciences, Copenhagen. 2019.
- Ministry of Food and Drug Safety.. Regulations on cosmetic safety standards, etc.. 2017:41.
- Moser K, Kriwet K, Naik A, Kalia YN, Guy RH. Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro. *Eur J Pharm Biopharm*. 2001;52:103-112.
- Noh HY, Kim YS. A Study on Harmful Effects of Hair Dying Products and Safety Measures. *Journal of Investigative Cosmetology*. 2008;6(3):79-88.
- Nohynek GJ, Fautz R, Benesch-Kieffer F, Toutain H. Toxicity and human health risk of hair dyes. *Food Cosmet Toxicol*. 2004;42(4):517-543.
- OECD(Organization for Economic Cooperation and Development). OECD guideline for the testing of chemicals, NO. 428: Skin absorption: in vitro method. 2004.
- Osmundsen P. Pigmented contact dermatitis. *Br J Dermatol*. 1970;83:296-301.
- Ozbek N, Akman S. Determination of lead, cadmium and nickel in hennas and other hair dyes sold in Turkey. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2016;79:49-53.
- Pappinen S, Tikkinen S, Pasonen-Seppanen S, Murtomaki L, Suhonen M, Urtti A. Rat epidermal keratinocyte organotypic culture (ROC) compared to human cadaver skin: The effect of skin permeation enhancers. *Eur J Pharm Sci*. 2007;30:240-250.
- Park KH, Jung SH, Shin HS, Kim BH. Permeation Characteristics of Hazardous Substances in Tattoo Dye using Franz Diffusion Cells. *J Environ Health Sci*. 2016; 42(1): 61-70.
- Patel D, Narayana S, Krishnaswamy B. Trends in use of hair dye: across-sectional study. *Int J Trichology*. 2013;5:140-143.
- PubChem. National center for biotechnology information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. [accessed November 19, 2020].
- Ros MM, Gago-Dominguez M, Aben KK, Bueno-de-Mesquita HB, Kampman E, Vermeulen SH, Kiemeneij LA. Personal hair dye use and the risk of bladder cancer: a case-control study from the Netherlands. *Cancer Causes Control*. 2012;23(7):1139-1148.
- Sauriasari R, Wang DH, Takemura Y, Tsutsui K. Cytotoxicity of lawsone and cytoprotective activity of antioxidants in catalase mutant *Escherichia coli*. *Toxicology*. 2007;235:103-111.
- Schuttelaar ML, Vogt TA, Rui F, Kręćisz B, Skora DC, Świerczyńska MK, Uter W, Filon FL. ESSCA results with the baseline series, 2002-2012: p-phenylenediamine. *Contact Dermatitis*. 2016; 75(3):165-172.
- SCCNFP(Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products). Intended for Consumers, concerning lawsone. 2004. COLIPA n° C146.
- SCCP(Scientific Committee on Consumer Products). Lawsonia inermis (Henna). 2005. COLIPA n° C169.
- Simon GA, Maibach HI. The pig as an experimental animal model of percutaneous permeation in man: qualitative and quantitative observations—an overview. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 2000; 13(5):229-234.
- Steiling W, Kreutz J, Hofer H. Percutaneous penetration/dermal absorption of hair dyes in vitro. *Toxicol In Vitro*. 2001;15:565-570.
- Sukuroglu AA, Battal D, Burgaz S. Monitoring of Lawsone, p-phenylenediamine and heavy metals in commercial temporary black henna tattoos sold in Turkey. *Contact Dermatitis*. 2017;76(2):89-95.

Tai SY, Hsieh HM, Huang SP, Wu MT. Hair dye use, regular exercise, and the risk and prognosis of prostate cancer: multicenter case-control and case-only studies. *BMC Cancer*. 2016;16:242.

Wolfram LJ, Maibach HI. Percutaneous penetration of hair dyes. *Arch Dermatol Res*. 1985;277(3): 235-241.

Zanoni TB, Pedrosa TN, Catarino CM, Spiekstra SW, de Oliveira DP, Hartog GD, Bast A, Hagemann G, Gibbs

S, de Moraes Barros SB, Maria-Engler SS. Allergens of permanent hair dyes induces epidermal damage, skin barrier loss and IL-1 α increase in epidermal in vitro model. *Food Cosmet Toxicol*. 2017;112: 265-272.

<저자정보>

김주연(대학원생), 김배환(교수), 김승원(부교수)