

알로에(蘆薈), 녹차(綠茶), 꿀(蜂蜜)의 미백효과에 관한 연구

한은정* · 이길영* · 김혜정* · 김윤범*

The Study on Depigmentation Effects of *Aloe*, *Camellia sinensis* and *Mel*

Eun-jeong Han · Gil-young Lee · Hae-jeong Kim · Yoon-bum Kim

Objectives : This study was performed to investigate the depigmentation effects of *Aloe*, *Camellia sinensis* and *Mel*.

Methods : Inhibition of tyrosinase activity, melanin production & cell viability in cultured B16 melanoma cells, UV screen and cytoprotective effects on PC12 cells injured by hydrogen peroxide were measured.

Results : *Aloe* has some inhibitory effects on tyrosinase activity, on the other hand *Camellia sinensis* and *Mel* do not have. They did not show any inhibitory effects on melanin production in melanoma cells and cytoprotective effects on PC12 cells injured by hydrogen peroxide. *Aloe* and *Camellia sinensis* have some inhibitory effects on UV screen.

Conclusions : This study shows that *Aloe* and *Camellia sinensis* which were generally used for external application have some depigmentation effects. Following this, We should use them for whitening agents and the depigmentation effects of the other natural subjects which were generally used for external application should be examined.

Key words : *Aloe*, *Camellia sinensis*, *Mel*, Depigmentation, Tyrosinase, Melanin, UV

* 경희대학교 한의과대학 안ibi인후피부과학교실
· 교신저자: 한은정, 경희대학교 부속한방병원 안ibi인후피부과
(Tel : 02-958-9181, E-mail : hoyahan@freechal.com)

서론

최근 pharmaceuticals와 cosmetics의 합성이인 "cosmetics"이라는 신조어가 제안되어 세 정이나 미용 목적 이외에 특수한 기능이 부가 된 화장품을 기능성 화장품으로 지칭하며¹⁾, 항 노화 화장품, 자외선 차단 화장품, self tanning 화장품과 함께 기미나 주근깨 등 색소성 피부를 개선시키는 미백화장품이 이에 포함된다²⁾.

피부가 자외선에 노출되면 멜라닌 세포는 그 파장에 따라 즉시형 색소침착과 지연형 색소침착이 발생하며 주근깨, 기미, 밀크 커피색 반점, 모반, 흑자 등이 이에 해당한다³⁾.

이들 색소침착질환은 한의학에서 面塵⁴⁾, 面黑⁵⁾의 범주에 속하는 것으로 面黥黯⁶⁾, 雀斑⁷⁾, 黧黑斑⁷⁾ 등으로도 불리우며, 최근 이에 대한 문헌적 고찰들^{8,9,10,11,12)}과 실험적 연구들^{13,14,15,16,17)}이 이루어지고 있다.

현재 알려져 있는 미백 원료들의 작용 메카니즘은 첫째 생성된 멜라닌을 환원시켜 탈색하는 방법, 둘째 멜라닌 생성의 주요 효소인 tyrosinase 억제, 셋째 cytokine network의 조절제, 넷째 기타 미백제로 분류할 수 있는데, 현재까지의 미백제 개발연구는 tyrosinase의 활성 저해제 개발에 치중되어 왔다¹⁸⁾.

관련 연구들을 살펴보면 tyrosinase 활성 억제에 대해서는 kojic acid¹⁹⁾, arbutin²⁰⁾, transforming growth factor-β1²¹⁾, 뽕나무가지²²⁾, 甘草²³⁾ 등에 관한 연구가, DOPA 산화 억제에 대해서는 vitamin C²⁴⁾ 등에 관한 연구가, 각질층 제거 촉진에 대해서는 retinoic acid²⁵⁾ 등에 관한 연구가, 자외선 차단에 대해서는 titanium dioxide²⁶⁾ 등에 관한 연구가 있다.

최근에는 천연물에서 미백제를 개발하려는 많은 연구들이 진행되고 있는데, 대표적으로 상백피와 감상산물에 존재하는 resveratrol²⁷⁾ 및 oxyresveratrol²⁸⁾ 그리고 그 유도체인 stilbene²⁹⁾과 mulberroside F³⁰⁾에 대한 연구가 있다.

미백제에 관한 한의학계의 연구를 살펴보면 단미는 麻黃¹³⁾, 鹽·醋·香油¹⁶⁾, 보리·현미·울무¹⁷⁾에 대해서 이루어졌고, 복합제제로는 摩風膏¹³⁾, 瀉白散¹⁴⁾과 加減西施玉容散¹⁵⁾에 대한 연구가 있었다.

우수한 미백 원료를 찾기 위하여 오래 전부터 한방 또는 민간 요법에 사용되어온 천연 식물을 대상으로 미백효능이 있는 유효물질을 검색하는 것이 중요하며, 본 연구에서는 피부의 용제로 다용되는 알로에(蘆薈), 녹차(綠茶), 꿀(蜂蜜)의 3종 약제를 선정하여 tyrosinase 활성 억제효과, melanoma cell에서의 멜라닌 생성률과 세포 생존률에 미치는 효과, 자외선 차단효과 및 hydrogen peroxide에 의해 유도된 PC12 cell 손상에 대한 항산화효과에 대해 실험연구하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 시료 및 조제

시료 중 알로에(생것)와 녹차(태평양, 가루설록차)는 85% MeOH로 초음파 추출(1시간 × 3회)하여 완전 농축하여 사용하였고, 이때 추출수율은 녹차 40%, 알로에 1.1%였다. 아카시아

꿀(동서식품)은 경희대학교 동서의학대학원 한약리학교실에서 검증한 후 완제품 그대로 사용하였다.

2) 시약

Mushroom tyrosinase, L-3,4-dihydroxyphenyl alanine(L-DOPA)은 Sigma(U.S.A.)에서 구입하였다. 이외의 시약들은 국산일급용을 사용하였으며, 유기용매는 덕산이화학(한국)에서 구입하였다.

Melanoma cell과 PC12 cell의 배양에 사용된 RPMI 1640 배지 및 horse serum, fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin, 0.25% trypsin-EDTA는 Gibco BRL(U.S.A.)에서 구입하였으며, poly-D- lysine, DMSO 및 30% hydrogen peroxide는 Sigma(U.S.A.)에서 구입하였다.

MTT assay에 사용된 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)는 Sigma (U.S.A)에서 구입하였다.

3) 세포주

B16 melanoma cell line과 PC12 cell line(pheochromocytoma, rat)은 서울대학교 세포주은행에서 공여받았다.

4) 기기

Tyrosinase assay, melanoma cell assay, MTT assay에는 ELISA reader E09090 (Molecular Device, U.S.A.)을 사용하였다.

2. 실험방법

1) Tyrosinase 활성 억제율 측정³¹⁾

Tyrosinase, DOPA를 phosphate buffer

(67mM, pH 6.8)에 녹인다. 시료는 농도별로 5 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$ 가 되도록 희석하였으며, 농도별 sample을 e-tube에 넣었다.

DOPA 49.3mg을 50ml tube에 넣은 후 phosphate buffer 30ml을 넣고 vortex한다. 96 well plate에 DOPA 120 μl 와 시료의 농도별 sample 40 μl 를 넣고 tyrosinase 40 μl 를 첨가하여 각 well당 총 200 μl 를 만든 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 incubation한다.

생성된 DOPACHROME의 양을 ELISA reader를 이용하여 490nm 영역에서의 흡광도를 측정하였다.

대조군은 시료대신 DOPA 120 μl , MeOH 40 μl 와 tyrosinase 40 μl 로 하였다.

tyrosinase 활성 억제율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{억제율} = \frac{[\text{대조군의 } A_{490} - \text{시료의 } A_{490}]}{\text{대조군의 } A_{490}} \times 100$$

2) Melanoma cell에서의 멜라닌 생성률과 세포 생존률 측정

(1) Melanoma cell의 배양

Melanoma cell은 10% FBS와 200nM TPA가 첨가된 RPMI 1640 배지에서 배양하였다.

100 π tissue culture dish에 배지 10ml를 넣고 약 5×10^5 개의 세포를 접종하였다. 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO₂ 환경 하에서 3~4일 후 confluent하게 자라면서 24 well plate에 10⁵cells/well로 희석하여 재접종하고 24시간 배양하였다.

(2) 시료의 처리

well당 배지 1000 μl 를 매일 갈아주면서 농도

별 시료(1, 10, 100ppm) 10 μ l를 3일간 전처리 한 후(solvent: 50% propylene glycol, 30% EtOH, 20% H₂O) 24시간 더 배양하였다.

(3) 멜라닌 생성률 측정

멜라닌 생성률을 측정하기 위해 배지를 제거한 후 PBS로 washing하였다. 1N NaOH 1 ml씩을 가한 후 수차례 pipetting하여 멜라닌을 녹인 후, 96 well plate에 멜라닌이 함유된 상층 배지 200 μ l를 이식하고서 400nm 영역에서의 흡광도를 측정하였다.

(4) 세포 생존률 측정

세포생존률을 측정하기 위해 배지를 제거한 후 PBS로 washing하였다. Crystal Violet 용액(CV 0.1%, 10% EtOH, 나머지 PBS) 200 μ l를 첨가하고 상온에서 5분간 incubation한 후 PBS로 2회 washing하였다. 95% EtOH 1ml를 첨가하고 상온에서 10분간 shaking한 후 96 well plate에 200 μ l를 이식하고서 590nm 영역에서의 흡광도를 측정하였다.

3) 자외선 차단효과 측정

Methanol에 시료 33.4 μ M을 녹이고서 UV scanning을 시행하여 UVB(280~320nm)와 UVA(320~400nm)영역에서의 흡수도(absorbance)를 측정하였다.

대조군은 시료대신 methanol로 하였다.

4) Hydrogen peroxide에 의해 유도된 PC12 cell 손상에 대한 항산화효과 측정

(1) PC12 cell의 배양

PC12 cell은 10% horse serum, 5% FBS 및 1% penicillin-streptomycin이 함유된 RPMI 1640 배지에서 배양하였으며, 습도가 일정하게

유지되는 37 $^{\circ}$ C의 배양기에 공기 95%와 CO₂ 5%의 혼합기체를 계속 공급하였다.

세포를 poly-D-lysine으로 coating된 배양용기(100mm)에서 배양한 후 96 well microplate나 6 well plate에 1.5 \times 10⁵cells/ml의 농도로 희석하여 이식하였다.

(2) 시료와 hydrogen peroxide의 처리

3 \times 10⁴cells/well의 PC12 cell을 96 well plate에 분주하고 24~48시간동안 37 $^{\circ}$ C의 배양기에서 배양하였다. 배양액을 serum free media로 교체한 후 DPBS에 녹인 농도별 시료(1, 10, 100 μ g/ml)를 전처리하였다. 90분이 경과한 후 30% hydrogen peroxide를 DPBS에 희석하여 150 μ M의 농도로 처리하였다.

대조군은 시료대신 DPBS를 같은 부피로 투여하였다.

(3) MTT assay

세포생존율을 측정하기 위해 MTT reduction assay를 사용하였다.

PC12 cell을 분주한 96 well plate에 0.5mg/ml의 MTT 200 μ l를 넣고 4시간동안 37 $^{\circ}$ C에서 반응시킨다. 여기에 isopropyl alcohol 100 μ l를 넣고 shaking plate에서 shaking하여 완전히 용해시킨 후, ELISA reader를 이용하여 570nm 영역에서의 흡광도를 측정하였다. 각 실험결과는 3회 반복실험한 결과의 평균치로 하였다.

(4) 통계분석

통계처리는 윈도우용 SPSS(ver 10.0)를 이용하였다.

각 실험군과 대조군의 비교를 Student's t-test로 검정하였으며, 유의수준은 0.05로 하였다.

결과

1. Tyrosinase 활성 억제 효과

3회 반복 측정된 tyrosinase 활성 억제율의 평균치를 대조군과 비교한 결과 알로에는 5 μ g/ml에서 0.6%, 50 μ g/ml에서 5.7%, 500 μ g/ml에서

20.9%의 농도의존성의 활성 억제를 나타냈고, 녹차는 5 μ g/ml에서 15.4%, 50 μ g/ml에서 -28.5%, 500 μ g/ml에서 -43.9%의 억제율을 보였고, 꿀은 5 μ g/ml에서 -18.7%, 50 μ g/ml에서 -20.8%, 500 μ g/ml에서 -10.9%의 억제율을 보였다(Table 1, Fig. 1).

Table 1. Inhibitory Effects on Tyrosinase Activity of *Aloe*, *Camellia sinensis* and *Mel*.

specimen \ concentration	5 μ g/ml	50 μ g/ml	500 μ g/ml
<i>Aloe</i>	0.6 \pm 18.1 %	5.7 \pm 13.6 %	20.9 \pm 5.7 %
<i>Camellia sinensis</i>	15.4 \pm 15.5 %	-28.5 \pm 16.9 %	-43.9 \pm 29.6 %
<i>Mel</i>	-18.7 \pm 16.1 %	-20.8 \pm 15.8 %	-10.9 \pm 22.7 %

Tyrosinase was preincubated with test substance at 25 $^{\circ}$ C for 10min prior to incubation with dopa for 30min and the absorbance was read at 490nm. Values are means \pm SEM of percentages of normal group (n=9).

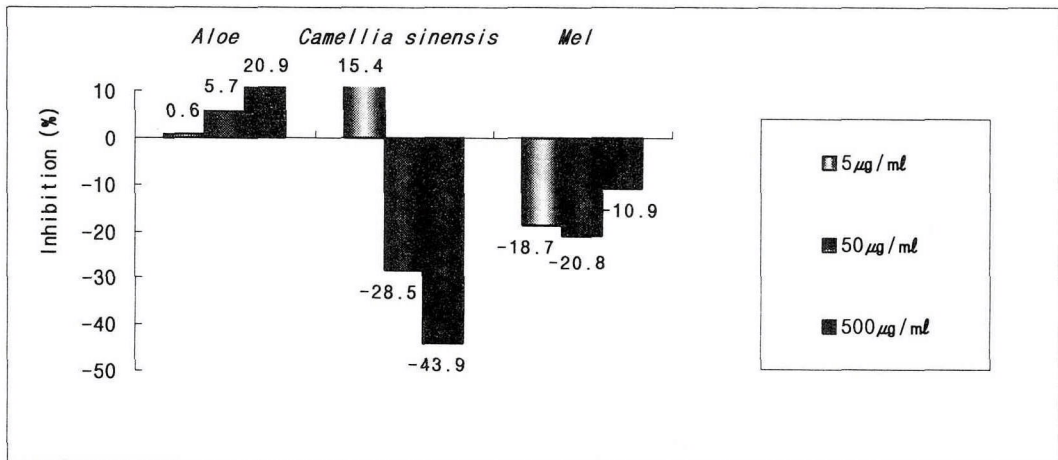


Fig. 1. Inhibitory Effects on Tyrosinase Activity of *Aloe*, *Camellia sinensis*, *Mel*.

2. Melanoma cell에서의 melanin 생성률과 세포 생존률에 미치는 효과

melanin 생성률 측정결과 알로에는 1ppm에서 98.7%, 10ppm에서 97.6%, 100ppm에서 87.3%의 생성률을 보였고, 녹차는 1ppm에서 98.9%, 10ppm에서 110%, 100ppm에서 9.78%의 생성률을 보였고, 꿀은 1ppm에서 96.4%, 10ppm에서 100.4%, 100ppm에서 97.2%의 생성률을 보였다(Table 2, Fig. 2, 3, 4).

세포 생존률을 측정결과 알로에는 1ppm에서 97.7%, 10ppm에서 96.1%, 100ppm에서 96.4%의 생존률을 보였고, 녹차는 1ppm에서 98.3%, 10ppm에서 83.6%, 100ppm에서 22.2%의 생존률을 보였고, 꿀은 1ppm에서 98.8%, 10ppm에서 101%, 100ppm에서 94.3%의 생존률을 보였다(Table 2, Fig. 2, 3, 4).

각 실험결과는 3회 반복 실험한 결과의 평균치로 하였다.

Table 2. Effects on Melanin Production and Melanoma Cell Viability of *Aloe*, *Camellia sinensis* and *Mel*(mean).

specimen	concentration (ppm)	melanin production (%)	cell viability (%)
<i>Aloe</i>	1	98.7	97.7
	10	97.6	96.1
	100	87.3	96.4
<i>Camellia sinensis</i>	1	98.9	98.3
	10	110	83.6
	100	9.7	22.2
<i>Mel</i>	1	96.4	98.8
	10	100.4	101
	100	97.2	94.3

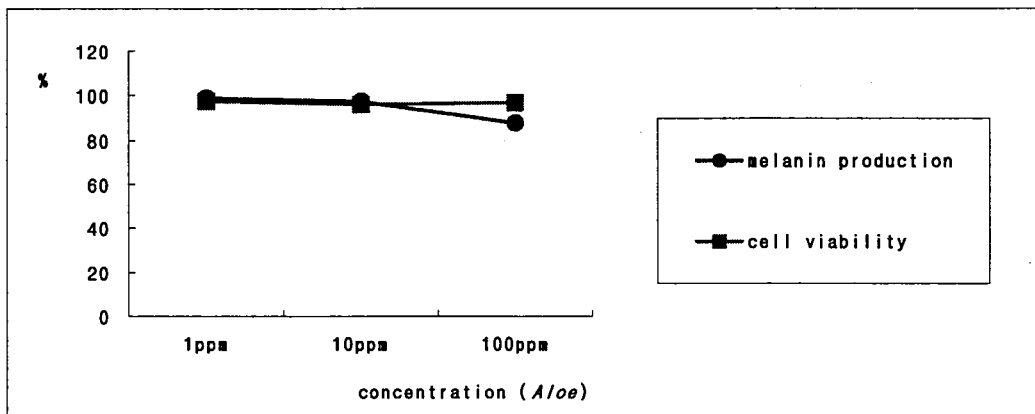


Fig. 2. Effects on Melanin Production and Melanoma Cell Viability of *Aloe*.

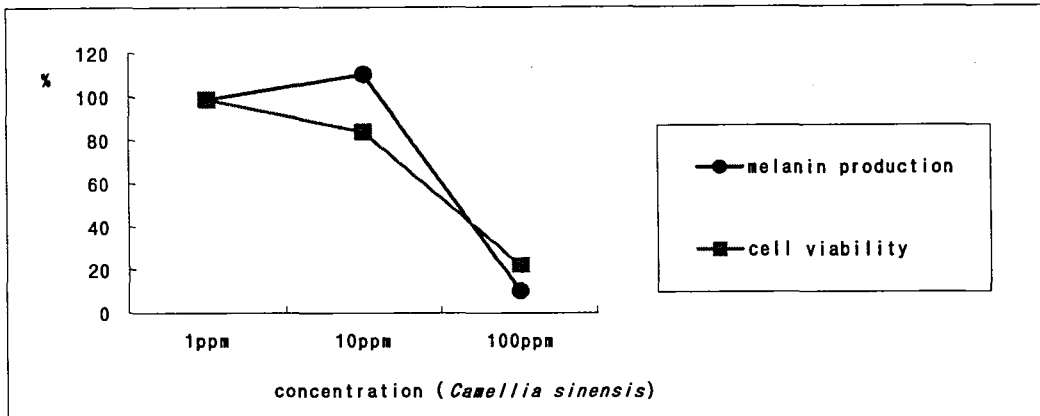


Fig. 3. Effects on Melanin Production and Melanoma Cell Viability of *Camellia sinensis*.

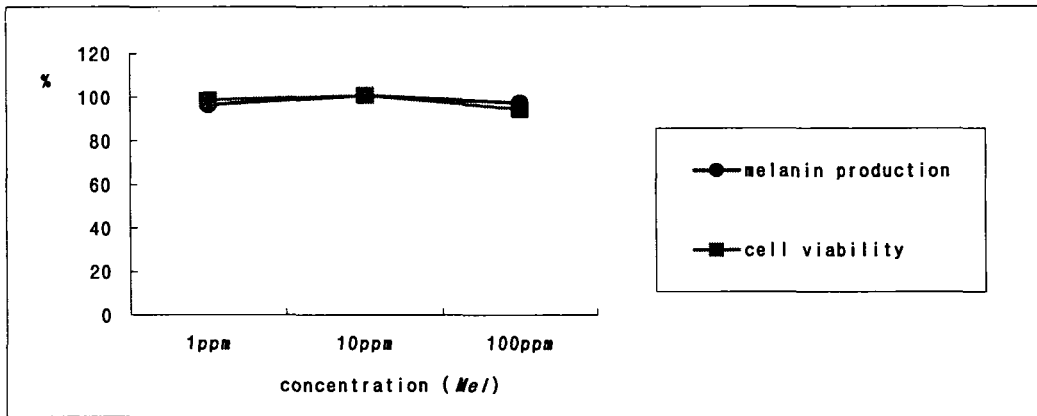


Fig. 4. Effects on Melanin Production and Melanoma Cell Viability of *Mel*.

3. 자외선 차단효과

UV spectrum을 분석한 결과, 알로에와 녹차는 대조군과 비교하여 UVB(280~320nm)에서 특징적인 peak를 보였고 UVA(320~400nm)에서는 변화를 보이지 않았으며 꿀은 양구간에서

변화를 보이지 않았다(Fig. 5, 6, 7, 8).

알로에는 252nm와 296nm에서 최대 흡수 peak를 나타냈고, 녹차는 273nm에서 최대 흡수 peak를 보였다.

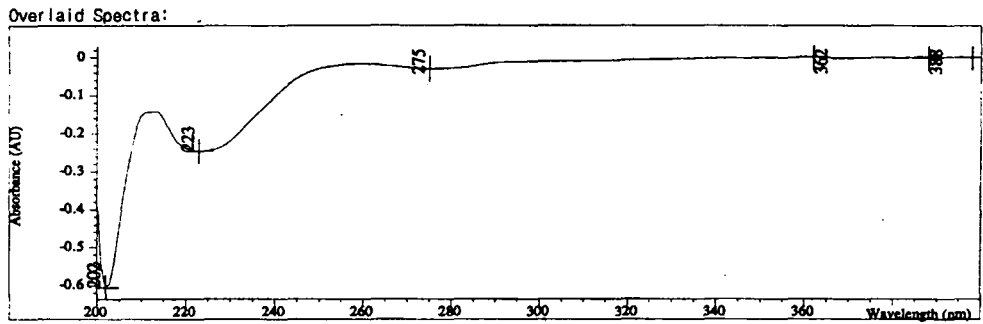


Fig. 5. UV Spectrum of Methanol.

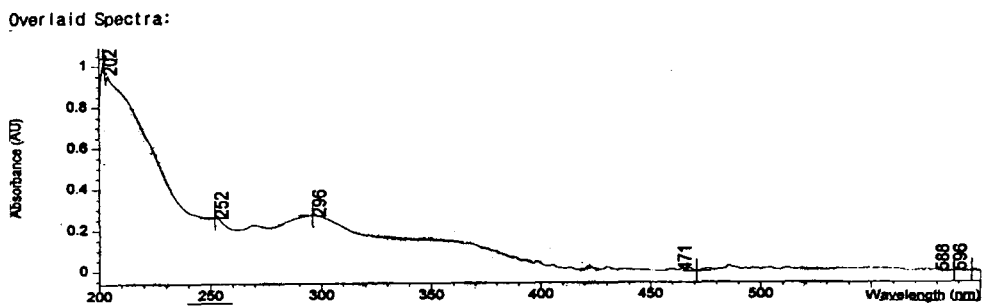


Fig. 6. UV Spectrum of Aloe.

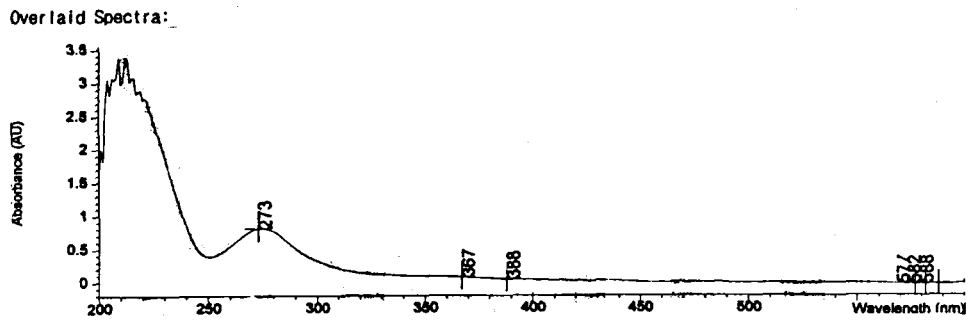


Fig. 7. UV spectrum of *Camellia sinensis*.

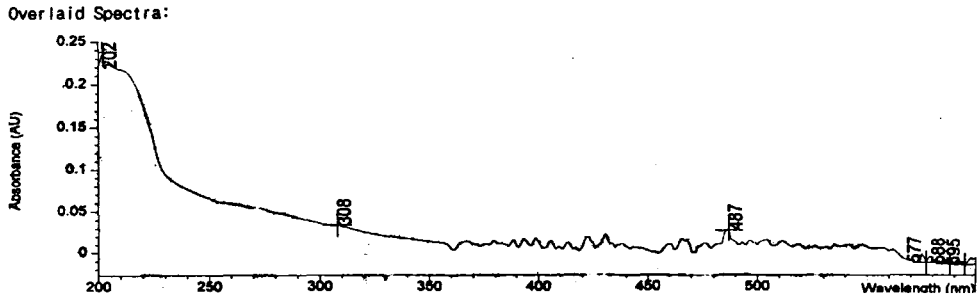


Fig. 8. UV spectrum of Mel.

4. Hydrogen peroxide에 의해 유도된 PC12 cell 손상에 대한 항산화효과

MTT assay상 DPBS를 투여한 대조군은 23.1±2.0%의 세포 생존률을 보인 반면에, 알로에는 1, 10, 100µg/ml에서 각각 13.7±2.3%, 19.7±4.8%, 22.8±4.2%의 세포 생존률을 보였고,

녹차는 1, 10, 100µg/ml에서 각각 13.8±1.6%, 13.3±1.1%, 22.6±2.7%의 세포 생존률을 보였고, 꿀은 1, 10, 100µg/ml에서 각각 13.3±0.6%, 16.6±2.7%, 18.6±6.9%의 세포 생존률을 보였다 (Table 3, Fig. 9).

Table 3. Cytoprotective Effects of Aloe, Camellia sinensis and Mel on PC12 Cells Injured by Hydrogen Peroxide.

specimen	concentration (µg/ml)	cell viability (%)
Control		23.1±2.0
Aloe	1	13.7±2.3*
	10	19.7±4.8
	100	22.8±4.2
Camellia sinensis	1	13.8±1.6*
	10	13.3±1.1*
	100	22.6±2.7
Mel	1	13.3±0.6*
	10	16.6±2.7*
	100	18.6±6.9

After pretreatment of PC12 cells with Extracts (1, 10, 100 µg/ml) for 90 min., cells were exposed to hydrogen peroxide (150 µM) for 24 hrs, then cytotoxicity measured by MTT assay. Viability of hydrogen peroxide untreated cells was set to 100%.

Values are means ± SEM of percentages of normal group (n=9). * represents significantly different from hydrogen peroxide treated control group (*p<0.01)

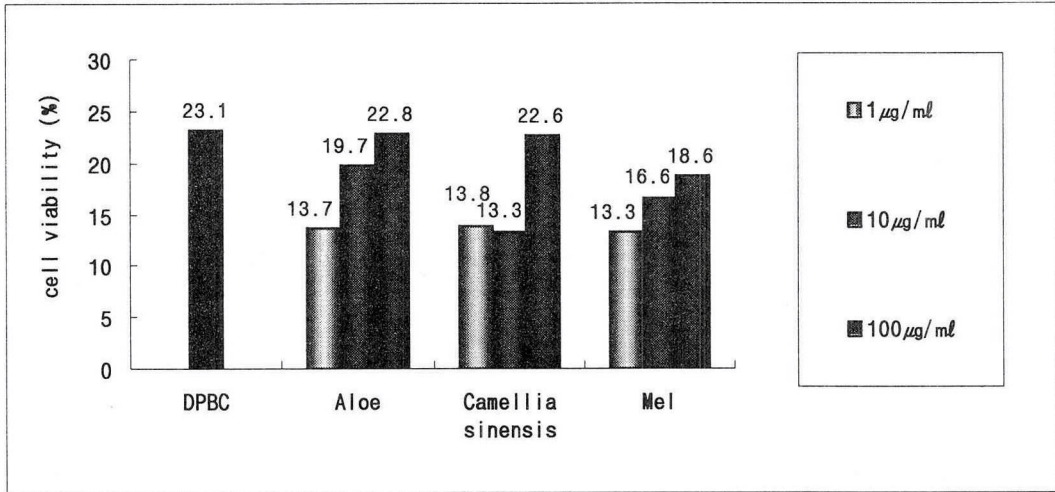


Fig 9. Cytoprotective Effects of Aloe, Camellia sinensis, Mel on PC12 Cells Injured by Hydrogen Peroxide.

고찰

피부가 자외선에 노출되면 멜라닌 세포는 그 과정에 따라 두가지 반응을 보이는데, UVA 또는 visible light에 의한 즉시형 색소침착과 UVB와 UVA에 의한 지연형 색소침착이 발생한다. 전자는 멜라닌 세포의 수나 효소 활성도, 멜라닌 소체의 합성 없이 멜라닌의 산화에 의해 발생하며 후자는 멜라닌 세포수의 증가, 새로운 멜라닌의 합성, 효소활성의 증가, 새로운 멜라닌 소체의 합성과 각질형성세포로의 전이 촉진에 의해 발생하게 된다. 이러한 자외선 외에도 멜라닌세포자극호르몬, 부신피질자극호르몬, estrogen, lipotropin, thyroxine, androgen 같은 호르몬도 멜라닌 세포를 자극하는 능력이 있다. 표피의 색소침착질환에는 멜라닌 세포에서 멜라닌 분비가 증가하여 생기는 주근깨, 기미, 밀크 커피색 반점, Becker 모반, 반문상 모반 등이 있고 기저세포층의 멜라닌 세포가 증

가하여 생기는 단순흑자, 일광흑자, PUVA 흑자, Peutz-Jeghers 증후군 등이 있다³⁾.

한의학에서는 《黃帝內經素問》 <至眞要大論面塵>에 최초로 面塵⁴⁾에 대한 언급이 나오며, 《諸病源候論·面奸黑黯候》³²⁾에서 병리기전과 형태에 대하여 구체적으로 언급한 이래 諸家들에 의하여 형태와 색조에 따라 面黑⁵⁾, 雀斑⁷⁾, 鰐黑斑⁷⁾ 등 다양하게 표현되어 왔다. 經絡으로는 陽明經, 臟腑로는 脾, 胃, 心, 腎과 연관이 있는 것으로 보았다⁹⁾. 病因學的으로는 첫째 陽明之氣不足을 원인으로 보았고^{註①,4)}, 둘

註① 《黃帝內經素問》 <至眞要大論> “歲陽明在泉 燥淫所勝 則霧霧清暝. 民病喜嘔 嘔有苦善太息 心脇痛 不能反側 甚則噎乾 面塵 身無膏澤 足外反熱. 陽明司天 燥淫所勝 則木乃晚榮 …… 心脇暴痛 不可反側 噎乾而塵腰痛 …… 目昧眦 瘍瘡痲癰 蝨蟲來見 病本于肝.”

제 風邪와 痰飲으로 氣血이 不和됨을 원인으로 보았으며^{註②,32)}, 셋째 思慮過多로 인하여 脾胃를 傷하여 발생한다고 하였고^{註③,5)}, 넷째는 腎水不足으로 인한 虛火의 발생을 주된 원인으로 보았으며^{註④,7)}, 다섯째는 熱을 주된 원인으로 파악하였다^{註⑤,33)}.

역대문헌에서 미백제와 관련하여 많이 사용된 처방으로는 玉容散, 玉容丸, 犀角升麻丸, 玉肌散, 知柏地黃湯, 改容丸 등이 있으며, 약물로는 白芷, 熟地黃, 白附子, 密陀僧, 白茯苓, 白薇, 防風, 綠豆 등이 다용되었고⁸⁾, 약물에 사용된 副形劑는 麻油, 香油, 蜜, 酒, 陳米, 桐油, 豬油糊 등이었다³⁴⁾.

멜라닌 소체내에서 tyrosine이 tyrosinase³⁵⁾에 의해 DOPA³⁶⁾로 전환되고 DOPA에 다시

tyrosinase가 산화작용을 촉매하는 효소로 작용하여 DOPAquinone이 생성되며, DOPAquinone이 cycloDOPA로 변한 다음 남아있는 DOPAquinone이 보조인자로 작용하여 DOPochrome을 생성한 후 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid 및 5,6-dihydroxyindole을 거쳐 최종적으로 멜라닌이 생성된다³⁷⁾. 따라서 생체 내에서 멜라닌의 생성에 tyrosinase가 초기단계에서 key enzyme으로 작용하고 있으므로³⁸⁾ 초기의 미백제는 tyrosinase에 의한 tyrosine의 산화억제기능에 초점이 맞추어져 있었고, in vitro에서 tyrosinase 활성 억제제를 선별하는 것이 중요한 미백제 개발수단이었다³⁹⁾.

현재 알려져 있는 미백 원료들의 작용 메커니즘은 크게 네가지로 분류할 수 있는데, 첫째 생성된 멜라닌을 환원시켜 탈색하는 방법, 둘째 멜라닌 생성의 주요 효소인 tyrosinase 억제, 셋째 cytokine network의 조절제, 넷째 기타 미백제인데, 기타 미백제로서는 자외선 차단제, radical 소거제(tocopherol, SOD) 등 소극적 의미의 미백제와 tyrosinase 합성 저해제 및 표피내 멜라닌 탈락 촉진제(placenta extract) 등이 알려져 있다¹⁸⁾.

미백과 관련된 연구들을 살펴보면 tyrosinase 활성 억제에 대해서는 kojic acid¹⁹⁾, arbutin²⁰⁾, transforming growth factor-β1²¹⁾, 뽕나무가지²²⁾, 甘草²³⁾ 등에 관한 연구가, DOPA 산화 억제에 대해서는 vitamin C²⁴⁾ 등에 관한 연구가, 각질층 제거 촉진에 대해서는 retinoic acid²⁵⁾ 등에 관한 연구가, 자외선 차단에 대해서는 titanium dioxide²⁶⁾ 등에 관한 연구가 있다. 이외에도 hydroquinone, sulfur, azelaic acid, retinoic acid, ascorbic acid 등이

註② 《巢氏諸病源候論》〈面皰黑黧候〉“人面皮上或有如烏麻 或如雀卵上之色是也. 此由風邪客於皮膚 痰飲漬於府藏故生皰黑黧. 養生方云飽食而坐不行步 有所作務不但無益 乃使人得積聚不消之病及手足痺面目如皰.”

註③ 《醫學綱目》“一婦人年幾三十 憂思不已 飲食失節 脾胃有傷 面色黧黑不澤 環脣尤甚 心懸如飢 …… 大抵心肺在上行營衛而光澤於外 …… 上古天真論云 陽明脈衰於上 面始焦 故知陽明之氣不足 非助陽明生發之齊 無以復其色 故以沖和順氣湯主之.”

註④ 《外科正宗》〈雀斑〉“雀斑乃腎水不能榮華于上 火滯結而爲斑 宜六味地黃丸 以滋化源外以玉容丸 早晚搽洗漸愈.” <女人面生黧黑斑> “黧黑斑者 水虧不能制火 血弱不能華肉 以致火燥結成斑黑 色枯不澤 朝服腎氣丸以滋化源 早晚以玉容丸洗之 兼戒憂思動火勞傷 日久漸退.”

註⑤ 《醫學心悟》“粉刺 雀斑 風熱也. 改容丸主之.”

사용되고 있으나 이들 중 대부분의 것은 효과가 불충분하거나 제형상 불완전한 면이 있고, 피부에 대한 안전성 측면에서 그 사용이 제한되고 있다³⁹⁾.

최근에는 자외선에 의한 멜라닌 생성에 관여하는 prostaglandin E2 등의 arachidonic acid 대사산물, 색소세포 호르몬 등의 존재가 밝혀졌고 멜라닌 세포내 멜라닌 모노머를 적당한 화합물로 트랩시키는 melanin 생성억제법도 제창되고 있다⁴⁰⁾. 또한 DL- α -tocopheryl ferulate⁴¹⁾, 안정형 비타민 C유도체들(예, L-ascorbic acid-2-glucoside)⁴²⁾, ellagic acids, α -hydroxy acids(AHAs), 3,5-dicaffeoyl 1-quinic acid 등이 있으며, 그 외에 kojic acid와 유용성 감초 추출물인 glabridin의 병용에 의한 상승적 미백작용에 관한 연구보고도 있다⁴⁰⁾.

피부색소생성을 조절하는 인자들에 대한 연구는 기존의 tyrosinase 중심의 효소 활성 조절중심으로부터 TRP-1, TRP-2 등을 포함한 총합적 멜라닌 생성 조절효소 복합체로의 접근이 시도되고 있다. 최근에는 멜라닌의 type(eumelanin과 pheomelanin)을 조절하는 접근 등도 도입되었으며, 또한 MSH와 ASP(Agouti Signaling Protein)의 경쟁적 현상 연구나 pigment 생성 관련 유전자의 발현조절, pheomelanin으로의 유도를 접근하는 유도체의 개발 등 여러 가지 다양한 접근이 이뤄지고 있다. 이 중 주목할 만한 부분은 MSH에 의한 melanogenesis 조절현상의 규명, melanin 생성 관련 효소의 전사작용 조절 등 분자 생물학적 접근, 그리고 피부 멜라닌 세포와 각질화세포, 랑겔한스세포와의 상호 작용에 관한 연구이다⁴³⁾.

예로부터 천연물은 미용에 자주 이용되어

왔으나 과학기술이 발전함에 따라 사람들은 화장품을 천연물에서 구하기보다 화학적으로 인공합성하는 것을 선호하기 시작했다. 그러나 화학합성 화장품은 부작용과 과민반응을 나타내기 쉽기 때문에 최근에는 화장품의 원료를 다시 천연물로부터 탐색하고자 하는 움직임이 나타나게 되었다³⁹⁾.

천연물의 미백효과에 대한 연구는 뽕나무가지²²⁾, 감초²³⁾, 麻黃 및 摩風膏¹³⁾, 瀉白散¹⁴⁾, 加減西施玉容散¹⁵⁾, 鹽, 醋, 香油¹⁶⁾, 보리, 현미, 울무¹⁷⁾, arctostaphylos plants⁴⁴⁾, melaleuca leucadendron⁴⁵⁾, genistein⁴⁶⁾ 등에 대해서 이루어졌으며, endothelin⁴⁷⁾, captopril⁴⁸⁾, α -tocopheryl ferulate⁴⁹⁾, wine phenolics와 sorghum tannins⁵⁰⁾ 등에 관한 연구도 있다.

최근 우리나라에서도 천연물로부터 미백 소재를 개발하려는 노력들이 이루어지고 있는데^{38,39,40,51)}, 특히 상백피에 존재하는 미백 활성 성분인 resveratrol류 화합물 중에 oxyresveratol²⁸⁾은 tyrosinase 활성억제 효과 지표인 IC50가 1 μ M로 매우 우수한 미백효과를 나타내는 것으로 알려져 있다³⁹⁾. 또한 상백피와 잠상산물의 resveratrol 및 oxyresveratrol의 유도체들인 stilbene²⁹⁾, mulberroside F³⁰⁾에 대한 연구도 있다.

미백제에 관한 한의학계의 연구를 살펴보면 이¹³⁾는 복합제재인 摩風膏보다 구성분초 단미인 麻黃이 tyrosinase 활성 억제효과가 뛰어나며 특히 한약재의 amino acid, vitamin B1, alkaloid, glycoside 및 식물성 hormone 등의 성분이 피부의 신진대사를 촉진하고 피부면역력을 증가시키며 피부노화를 방지하는 작용이 있다고 보고하였고, 김¹⁴⁾과 손¹⁵⁾은 복합제재인 瀉白散, 加減西施玉容散이 각각 농도의존적인

tyrosinase 활성 억제효과를 보인다고 보고하였다. 조¹⁶⁾는 한방외용제에 다용되는 鹽, 醋, 香油의 미백효과에 관한 검증결과 개개의 미백효과가 미약함을 보고하였고, 이¹⁷⁾는 보리, 현미, 울무가 저농도에서 농도의존적으로 tyrosinase 활성억제 효과가 있음을 보고하였다.

최근 하얀 피부를 갖고자 하는 욕구가 증가하고 환경오염으로 인해 성층권의 오존층이 얇아지면서 미백제품에 대한 수요가 증가하고 있으며⁵²⁾, 21세기의 화장품 개발방향도 미백이나 항노화 등의 기능성 화장품 개발, 식물추출물 등 천연물의 원료 개발이 주류를 이루고 있다⁵³⁾. 이에 따라 미백제에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며 우리나라에서도 보건복지부 차원에서 미백제 개발을 지원하여 이와 관련한 보건의료기술연구개발사업^{38,39,43,54,55)}이 진행되고 있다.

그러나, 현재까지도 만족할 만한 수준의 미백제나 화장품은 없으므로 본 연구의 목적은 효과적인 미백제 개발에 있어 천연 한약재가 이용되는데 기초가 되기 위함이다. 임상적으로 효능이 우수한 기능성 미백제를 개발하기 위해서는 우선 멜라닌 생성 억제효과가 우수한 원료를 선별하는 것이 중요하며 이를 위해서는 각종 천연물, 합성물, 미생물로부터의 in vitro 인체 tyrosinase 활성억제제와 쥐의 색소세포 수준에서의 멜라닌 생성억제제 개발이 이루어져야 한다.

이번 실험연구에서는 천연물 중 알로에와 녹차, 그리고 꿀을 대상으로 하였다.

알로에(蘆薈, Aloe)는 苦味이고 寒하며 肝, 大腸經에 들어가고 瀉下, 殺蟲, 清肝 등의 효능이 있어 熱結便秘를 瀉下시키며 肝經의 實熱을

내림으로 驚癇을 치료하고 外用하여 癬瘡를 치료하는데 이용하는 약재이다⁵⁶⁾. 오래전부터 민간에서 화상과 피부염의 치료에 사용되어 왔으며 최근에는 미백 및 보습을 목적으로 하는 화장품에도 광범위하게 사용되고 있다. 특히 알로에에서 추출된 aloesin이 tyrosinase를 저해하는 물질로 보고되었으며, 이와 관련된 연구가 진행되고 있다⁵⁷⁾.

녹차(綠茶, Camellia sinensis)는 세계적으로 가장 널리 소비되어지고 있는 음료로 대부분의 녹차의 polyphenol류인 catechin의 효과는 혈중 콜레스테롤 억제, 항균작용, 혈압상승 억제, 혈당억제 등의 약리작용이 보고되고 있으며, 이외에 항산화 작용, 혈소판 응집 억제, 항암작용 등이 여러 문헌에서 보고되고 있다⁵⁸⁾. 한편 과산화지질의 생성을 억제하여 노화를 예방하며, 혈청중의 지질농도를 저하시키며, 중성지질의 생성을 억제하여 비만을 방지하고, 모세혈관의 저항력도 증진시킨다. 그밖에 항박테리아, 항바이러스, 항발암 작용, 위액분비 촉진, 이뇨 작용, 항염증 효과 등 다양한 생물학적 활성과 약리학적 효과를 가지는 것으로 보고되었다⁵⁹⁾.

또한 catechin은 자외선으로 유도된 피부종양억제에 효과가 있다는 것이 보고되고 있고, 녹차를 장기간 경구 투여하는 경우 자외선 B에 의해 유도되는 홍반 반응을 억제할 수 있다는 보고가 있다⁶⁰⁾.

최근 국내에서는 최 등⁵⁸⁾, 이 등⁵⁹⁾, 김 등⁶¹⁾, 류 등⁶²⁾, 윤 등⁶³⁾에 의해 녹차를 보습 및 미백 등의 목적으로 피부외용제로 개발하려는 연구들이 있었으며, 특히 김 등⁶¹⁾에 의한 연구에서는 녹차추출물이 tyrosinase 저해효과가 있는 것으로 나타났다.

꿀(蜂蜜, Mel)은 性이 平하고 肺, 脾, 大腸經

에 들어가고 味가 甘하여 滋養緩和시키는 功效가 있어 淸熱, 補中, 生津, 潤燥, 止痛, 止瀉, 解毒의 효능이 있어 肌肉瘡瘍 등에 적용하고 외용하여 湯火傷과 面上黥點에 塗敷하며⁵⁶⁾, 외용제의 첨가제로 다용되어 內消散, 數藥方, 如意金黃散 등에 사용되었다³⁴⁾.

본 연구에서는 오랫동안 민간에서 피부외용제로 사용되어왔던 알로에와 자외선에 의한 피부질환에 효과를 나타내는 녹차와 역대문현상 외용제의 첨가제로 다용된 꿀의 미백효과 유무를 검정하고자 tyrosinase 활성 억제효과, melanoma cell에서의 멜라닌 생성률과 세포 생존률에 미치는 효과, 자외선 차단효과에 대해 실험연구하였으며, hydrogen peroxide에 의해 유도된 PC12 cell 손상에 대한 항산화효과에 대해서도 살펴보았다.

Tyrosinase 활성도의 평균치를 대조군과 비교한 결과 알로에는 농도의존적으로 tyrosinase 활성억제효과가 증가하여 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 20.9%의 억제율을 보였고, 녹차는 5 $\mu\text{g/ml}$ 에서 15.4%의 억제율을 보였으나 50 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 tyrosinase 활성억제효과가 인정되지 않았으며, 꿀은 모든 농도에서 활성억제효과가 인정되지 않았다. 기존의 연구결과에서는 麻黃(500 $\mu\text{g/ml}$)이 14.8%, 瀉白散(200 $\mu\text{g/ml}$)이 79.2%, 加減西施玉容散(500 $\mu\text{g/ml}$)이 6.7%의 tyrosinase 활성 억제율을 나타냈다.

Melanoma cell에서의 멜라닌 생성률과 세포 생존률에 미치는 효과를 검증한 결과, 세 물질이 모두 멜라닌 생성 억제효과를 나타내지 못했다. 특히 녹차는 100ppm에서 9.78%의 멜라닌 생성률을 보여 유의적으로 멜라닌 생성을

억제시켰으나, 세포 생존률이 22.2%에 불과해 높은 세포독성을 나타냄을 알 수 있었다. 참고로 기존의 실험에서 麻黃(10ppm)이 78%, 瀉白散(100 $\mu\text{g/ml}$)이 47%, 加減西施玉容散(100 $\mu\text{g/ml}$)이 57.5%로 농도의존적인 멜라닌 생성 억제효과를 보였다.

UV spectrum을 분석한 결과, 알로에와 녹차는 대조군과 비교하여 UVB(280~320nm)에서 특징적인 peak를 보였다. 알로에는 252nm와 296nm에서, 녹차는 273nm에서 최대 흡수 peak를 보였으나 미약했고 UVA(320~400nm)에서는 변화를 보이지 않았다.

꿀은 加減西施玉容散과 마찬가지로 양구간에서 변화를 보이지 않아 자외선 차단효과를 나타내지 않았다. 그리고 麻黃, 加減西施玉容散이 항산화효과를 보였던 반면, 알로에, 녹차, 꿀은 항산화효과를 나타내지 않았다.

이상의 결과를 종합하면 알로에는 농도의존적으로 tyrosinase 활성억제효과와 약간의 자외선 차단효과가 있었으나 melanin 생성억제효과와 항산화효과는 인정되지 않았고, 녹차는 약간의 자외선 차단효과만 인정되었으며, 꿀은 모든 항목에서 미백효과가 나타나지 않았음을 알 수 있었다. 앞으로 알로에와 녹차에 대해서는 in vivo 실험을 통해 한방 미백제 개발에 활용해야 할 것이고, 이때 특히 고려해야 할 것은 활성 성분의 안정화와 피부 흡수 향상이라는 2가지 작용을 위한 최적의 제형을 구성하는 것이다. 이외에도 역대문현상 또는 민간에서 다용되는 한약재나 처방에 대한 검증이 계속적으로 이루어져야 할 것이다.

결론

알로에, 녹차 및 꿀의 미백효과를 알아보기 위해 tyrosinase 활성 억제효과, melanoma cell에서의 멜라닌 생성률과 세포 생존률에 미치는 효과, 자외선 차단효과, hydrogen peroxide에 의해 유도된 PC12 cell 손상에 대한 항산화효과에 관해 실험연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 알로에는 모든 농도(5, 50, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 농도 의존적인 tyrosinase 활성 억제효과가 있었으며, 녹차는 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서만 tyrosinase 활성 억제효과가 있었고, 꿀은 모든 농도에서 tyrosinase 활성 억제효과를 나타내지 않았다.

2. 알로에, 녹차, 꿀은 모두 농도 의존적인(1, 10, 100ppm) melanin 생성 억제효과를 나타내지 않았다.

3. 알로에, 녹차는 UVB(280~320nm)에서 미약한 자외선 차단효과가 있었으며 꿀은 없었다.

4. 알로에, 녹차, 꿀은 모든 농도(1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 항산화효과를 나타내지 않았다.

이상의 결과를 요약하면 알로에는 농도의존적으로 tyrosinase 활성억제효과와 약간의 자외선 차단효과가 있었으며, 녹차는 약간의 자외선 차단효과만 인정되었고, 꿀은 모든 항목에서 미백효과가 나타나지 않았다.

참고문헌

1. Baran R, Maibach HI. Textbook of Cosmetic Dermatology, 2nd edn. MA, Blackwell science Inc. 1998.
2. 오칠환. 의학적 관점에서 본 기능성 화장품. 대한의사협회지. 2001;44(6):631-637.
3. 대한피부과학회 교과서 편찬위원회. 피부과학. 서울:여문각. 2001:8-9,409,533-5.
4. 洪元植. 精校 黄帝內經素問. 서울:동양의학연구원 출판부. 1985:11,295-296.
5. 樓英. 醫學綱目. 서울:대성문화사. 1986:1081.
6. 李挺. 編註醫學入門(雜病篇). 서울:대성문화사. 1990:29,224.
7. 陳實功. 外科正宗. 上海:上海科學技術出版社. 1989:290,298.
8. 박인기, 김경준. 雀斑에 관한 文獻의 考察. 東醫學會誌. 2001;5(1):139-66.
9. 신연상, 노석선. 기미에 關한 文獻의 考察. 大韓外官科學會誌. 1998;11(1):82-98.
10. 박혜준, 고우신. 雀斑의 原因, 症狀 및 治方에 關한 文獻의 考察. 大韓外官科學會誌. 1997;10(1):247-62.
11. 남혜정, 채병윤. 肝斑에 關한 文獻의 考察. 大韓外官科學會誌. 1996;9(1):16-23.
12. 정동욱, 채병윤. 肝斑의 外用藥에 關한 文獻的 考察. 大韓外官科學會誌. 1989;2(1):33-40.
13. 이상희. 麻黃 및 摩風膏의 美白效果에 關한 研究. 경희대학교 동서의학대학원 석사학위논문. 2001.

14. 김성각. 瀉白散의 미백효과 검정에 관한 연구. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2000.
15. 손동석. 加減西施玉容散의 미백효과에 관한 연구. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2002.
16. 조재훈. 염(鹽), 초(醋), 향유(香油)의 미백효과에 관한 연구. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2003.
17. 이태현. 보리, 현미, 울무의 미백효과에 관한 연구. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2003.
18. 이현호. 최근 미백화장품의 개발동향. 대한화장품학회지. 1997;23(1):43-56.
19. Lim JT. Treatment of melasma using kojic acid in a gel containing hydroquinone and glycolic acid. *Dermatol Surg.* 1999;25(4):282-4.
20. Kennechi T, Minoru F. Mechanism of arbutin inhibitory effect on melanogenesis and effect on the human skin with cosmetic use. *Fragrance J.* 1990;4:72-7.
21. Martinez-Esparza M, Ferrer C, Castells M, Garcia-Borrón JC, Zuasti A. Transforming growth factor beta 1 mediates hypopigmentation of B16 mouse melanoma cells by inhibition of melanin formation and melanosome maturation. *Int J Biochem Cell Biol.* 2001;33(10):971-83.
22. 이정훈, 박준홍, 이종석, 황규왕. 뽕나무 가지 추출물의 melanin 생성 억제효과. 대한피부연구학회지. 2001;8(2):86-90.
23. Yokota T, Nishio H, Kubota Y, Mizoguchi M. The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. *Pigment Cell Research.* 1998;11(6):355-61.
24. 하병조. 화장품학. 서울:수문사. 1999 :92-4.
25. Yoshimura K, Tsukamoto K, Okazaki M, Virador VM, Lei TC, Suzuki Y, Uchida G, Kitano Y, Harii K. Effects of all-trans retinoic acid on melanogenesis in pigmented skin equivalents and monolayer culture of melanocytes. *J Dermatol Sci.* 2001;27(1):68-75.
26. Jens-Michael Schroder. Cytokine networks in the skin. *J Invest Dermatol.* 1995;105:20-4.
27. 최상윤. Resveratrol 및 그 유도체들의 melanin 생성 억제효과 규명. 경희대 동서의학 대학원. 2001.
28. Shin NH, Ryu SY, Choi EJ, Kang SH, Chang IM, Min KR, Kim YS. Oxyresveratrol as potent inhibitor on DOPA oxydase activity of mushroom tyrosinase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;243:801-803.
29. Choi SY, Kim SH, Kim HC, Suk KH, Hwang JS, Lee BG, Kim AJ, Kim SY. (4-Methoxy-benzylidene)-(3-methoxy-phenyl)-amine, a nitrogen analog of stilbene as a potent inhibitor of melasma production. *Chem Pharm Bull.* 2002;50(4):450-452.

30. Lee SH, Choi SY, Kim HC, Hwang JS, Lee BG, Gao JJ, Kim SY. Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis. *Biol Pharm Bull.* 2002 Aug;25(8):1045-8.
31. Laskin JD, Piccinini LA. Tyrosinase isozyme heterogeneity in differentiating B16/C3 melanoma. *J Biol Chem.* 1986 Dec 15;261(35):16226-35.
32. 巢元方. 巢氏諸病源候論. 서울:대성문화사. 1992:200.
33. 程國彭. 醫學心悟. 香港:友聯出版社. 1961:290.
34. 이정용, 노석선. 外科正宗에 收錄된 外用藥에 對한 文獻的 考察. 大韓外官科學會誌. 2000;13(1):185-208.
35. Hearing VJ. Mammalian tyrosinase. *Int J Biochem.* 1987;19(12):1141-1147.
36. Slominski A, Moellmann G, Kuklinska E. L-tyrosine, L-dopa and tyrosinase as positive regulators of the subcellular apparatus of melanogenesis in Ab amelanotic melanoma cells. *Pigment Cell Res.* 1989;2:109-16.
37. Acroca P, Garcia-Borrón JC, Lozano JA. Regulation of final mammalian melanogenesis. The role of dopachrome tautomerase and the ratio between 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid and 5,6-dihydroxyindole. *Eur J Biochem.* 1992 Aug 15;208:155-163.
38. 이승호. 천연물로부터 피부멜라닌 생성 억제제의 개발. 보건의료기술연구개발사업최종보고서. 2002.
39. 이병곤. 천연유래의 멜라닌생성 억제물질 선별 및 이를 이용한 기능성 미백화장품 개발. 보건의료기술연구개발사업최종보고서. 2002.
40. 박수남, 고진아, 박영준. 식물유래 성분의 미백화장품(기능성화장품)에의 응용. 서울산업대학교 논문집. 2001;52:205-220.
41. Ichihashi M, Funasaka Y, Ohashi A, Chacraborty A, Ahmed NU, Ueda M, Osawa T. The inhibitory effect of DL-alpha-tocopheryl ferulate in lecithin on melanogenesis. *Anticancer Res.* 1999 Sep-Oct;19(5A):3769-74.
42. Kumano Y, Sakamoto T, Egawa M, Iwai I, Tanaka M, Yamamoto I. In vitro and in vivo prolonged biological activities of novel vitamin C derivative, 2-O-alpha-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid (AA-2G), in cosmetic fields. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 1998 Jun;44(3):345-59.
43. 강원형. 피부 신호전달을 이용한 미백제 개발. 보건의료기술연구개발사업최종보고서. 2001.
44. Hideaki M. Studies for cuticle drugs from natural sources IV. Inhibitory effects of some arctostaphylos plants on melanin biosynthesis. *Biol Pharm Bull.* 1996;19(1):153-6.
45. Tsuruga T, Chun YT, Ebizuka Y, Sankawa U. Biologically active constituents of *Melaleuca leucadendron* -inhibitors of induced histamine release from rat mast cells. *Chem Pharm Bull.*

- 1991; 39(12):3276-8.
46. Yan CH, Chen XG, Li Y, Han R. Effects of genistein, a soybean-derived isoflavone, on proliferation and differentiation of B16-BL6 mouse melanoma cells. *J Asian Nat Prod Res.* 1999;1(4):285-99.
47. Yukihiro Y. Effects of endothelins on signal transduction and proliferation in human melanocytes. *J Biol Chem.* 1991;266:19352-7.
48. Espin JC, Wichers HJ. Effect of captopril on mushroom tyrosinase activity in vitro. *Biochim Biophys Acta.* 2001;1544(1-2):289-300.
49. Funasaka Y, Komoto M, Ichihashi M. Depigmenting effect of alpha-tocopheryl ferulate on normal human melanocytes. *Pigment Cell Res.* 2000;Suppl 8:170-4.
50. Gomez-Cordoves C, Bartolome B, Vieira W, Virador VM. Effects of wine phenolics and sorghum tannins on tyrosinase activity and growth of melanoma cells. *J Agric Food Chem.* 2001;49(3):1620-4.
51. 손애량, 이승자. 미백화장품 효능 검증에 관한 고찰. *한국미용학회지.* 2000;6(1):239-254.
52. T. Joseph Lin. 화장품의 세계적인 개발 동향과 21세기 아시아인을 위한 기능성 화장품. *대한화장품학회지.* 1997;23(1):5-20.
53. 김영대. 21세기의 화장품 연구방향. *대한화장품학회지.* 1993;4:8-39.
54. 박경찬. 인공피부와 인공피부모델의 개발. *보건의료기술연구개발사업최종보고서.* 2002.
55. 임성빈. 기미의 병태생리 및 치료제개발에 대한 연구-여성 호르몬이 melanocyte에 미치는 영향을 중심으로. *보건의료기술연구개발사업최종보고서.* 2002.
56. 전국한의과대학 본초학 교실. *본초학.* 서울:영림사. 1991:245-246,543-544.
57. Long Zhu Piao, Hyang Rae Park, Yun Kyung Park, Seung Ki Lee, Jeong Hill Park, and Man Ki Park. Mushroom tyrosinase inhibition activity of some chromones. *Chem Pharm Bull.* 2002;50(3):309-311.
58. 최재영, 김경달, 박재경, 김낙인. 녹차추출물인 (-)-epigallocatechin-3-gallate와 polyphenol이 배양 인체 각질형성세포, 인체 유표피암세포, 섬유모세포, 멜라닌세포, 및 혈관 내피세포의 증식에 미치는 영향. *대한피부과학회지.* 2002;40(4):375-385.
59. 이은희, 이종권, 홍진태, 정경미, 김용규, 이선희, 정수연, 이용욱. 녹차추출물 성분 catechin이 자외선에 의해 손상된 피부에 미치는 영향. *J FD Hyg Safety.* 2001;16(2):117-124.
60. Agarwal R, Katiyar SK, Khan SG, Mukhtar H. Protection against ultraviolet B radiation-induced effects in the skin of SKH-1 hairless mice by a polyphenolic fraction isolated from *Camellia sinensis*. *Photochem Photobiol.* 1993;58:695-700.

61. 김진구, 차원섭, 박준희, 오상룡, 조영제, 친성숙, 최정. 한국산 녹차로부터 분리한 축합형 탄닌의 tyrosinase 저해효과. 한국식품과학회지. 1997;29(1):173-177.
62. 류병호, 박춘옥. 녹차추출물에 의한 쥐표피의 효소에 대한 항산화 효과. 한국식품과학회지. 1997;29(2):355-361.
63. 윤상웅, 황인아, 유종엽, 박경찬. 녹차추출물을 함유한 보습제의 항염증 효과 평가. 대한피부과학회지. 2003;41(1):15-20.