

녹차 폴리페놀을 첨가한 화장품의 암 세포증식억제 효과

안봉전* · 박태순 · 이진영 · 박근혜 · 현석준 · 이진태 · 조영제¹ · 김영선²

대구한의대학교 화장품약리학과, ¹상주대학교 식품공학과, ²(주)이지함 화장품

Growth Inhibitory Effect of Irradiated Green Tea Polyphenol Addition in Cosmetic Composition

Bong-Jeun An*, Tae-Soon Park, Jin-Young Lee, Gun-Hye Park, Sok-Jun Hyun, Jin-Tae Lee, Young-Je Cho¹ and Young-Sun Kim²

Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

¹Department of Food Engineering, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

²LeeJiHam Cosmetics Ltd., Seoul 135-892, Korea

Received May 17, 2007; Accepted July 19, 2007

Cosmetic products including toner and essence were manufactured to evaluate the effect of green tea polyphenols. In addition, irradiation was applied to remove an undesirable color of green tea polyphenol(GTP), which may cause a problem in marketing. The growth inhibition rates of GTP, PT, and PE on all cell lines were shown to be over 80% at 500 ppm concentration. Especially the growth inhibition rates of GTP, PT, and PE on human melanoma(G361) cells were shown to be over 80% at only 100 ppm concentration. Results indicate that the addition of irradiated green tea polyphenol may be effective in the manufacturing of functional cosmetics including toner and essence with various anti-cancer activities.

Key words: anti-carcinogenic, green tea polyphenol, human melanoma

서 론

녹차의 특징적인 성분으로 아미노산인 theanine 등이 있으며¹⁻³⁾ 또한 폴리페놀류를 함유하고 있는데, 이는 동일분자 속에 수산기(-OH)를 두개 이상 갖는 페놀성 물질로, 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물중의 하나로써 다양한 구조와 분자량으로 분포한다. 폴리페놀류는 항산화 활성으로 잘 알려져 있는 녹차의 카테킨류가 있으며, 이는 주로 유리형의 epicatechin(EC), epigallocatechin(GC)과 ester형인 epicatechingallate(EGC), epigallocatechin gallate(EGCG)이며 catechin과 gallic acid가 소량 함유되어 있다. 또한 이들 폴리페놀류는 혈중 콜레스테롤을 저하시키고⁴⁾, 항산화 작용⁵⁾, 항암작용⁶⁾, 해독작용⁷⁾, 항균작용⁸⁾, 충치예방작용⁹⁾, 노화억제작용¹⁰⁾, 미백작용¹¹⁾, 향기성분¹²⁾ 및 중금속제거효과^{13,14)} 등이 보고되고 있다.

그동안 사용되어온 항암제는 암세포뿐만 아니라 정상세포에도 독성을 나타내며, 암세포에 대하여 내성을 형성함으로써 사용이 제한적이다¹⁵⁾. 대표적인 예로서 부신피질 스테로이드,

cyclophosphamide, chlorambucil 및 methorexate 등이 있으며¹⁶⁾, 이러한 화학요법제들은 체액성 면역과 세포성 면역의 억제를 초래하며, 임파구 및 단핵세포의 증식과 기능을 억제한다¹⁷⁾. 따라서 최근 인체에 독성을 나타내지 않고 인간이 오랫동안 먹어왔던 천연물로부터 암세포의 성장을 저지할 수 있는 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다^{18,19)}.

방사선은 물질 투과시 원자, 원자단, 분자에 이온을 생성하게 하며, 그 투과력이 강하여 농산물의 발아 및 발근 억제, 멸균, 숙도 지연, 식품 물성개선, 식품 첨가물, 향신료, 화장품 및 의약품에 많이 쓰이고 있다²⁰⁾. 방사선의 고에너지로 인하여 물에서 생성된 활성화된 유리기(radical)는 단백질의 소변화, cross-linking, 응집화 및 산화작용과 같은 이화학적 변화를 일으켜 단백질의 구조 변화를 일으킬 수 있으며²¹⁻²⁴⁾, 저에너지 방사선은 식물 유지의 항산화능을 증가시킨다고 보고하였다. 한편, 천연물을 식품 및 화장품에 응용 할 경우 색소로 인한 안정도 및 시각적으로 문제가 되고 있으나, 방사선을 조사함으로써 색소 제거 또는 밝고 투명하게 변화시키면서 본래 가지고 있던 생리활성 유지가 가능하다는 보고가 있다^{25,26)}.

따라서 본 연구에서는 녹차폴리페놀의 색을 제거하기 위하여 방사선을 조사하여 화장품에 응용가능성을 검토 하였으며, 또한 생리활성 변화를 알아보고자 토너와 에센스에 폴리페놀을

*Corresponding author

Phone: 82-53-819-1429, Fax: 82-53-819-1429

E-mail: anbj@dhu.ac.kr

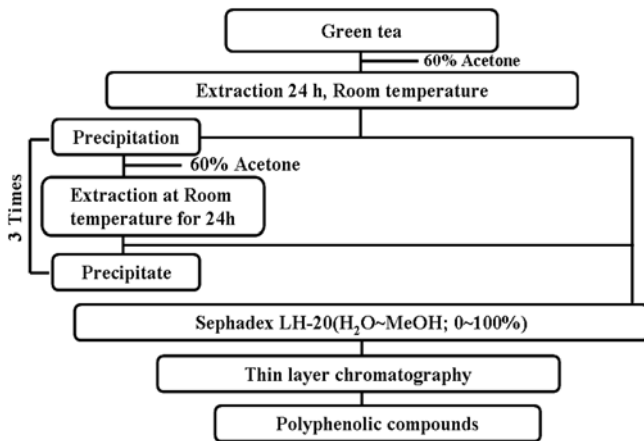


Fig. 1. Purification procedure for the polyphenol isolated from green tea.

첨가 후 방사선 조사량을 0, 5, 10, 20 kGy로 조사하여 암세포 증식 억제능을 측정하여 화장품 천연소재로서의 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

시약. 암세포 증식에 미치는 영향에 대한 실험의 세포주는 피부암세포인 B16F10과 G361, 대장암세포인 HT-29 및 폐암세포인 A549를 Korean Cell Line Bank(KCLB)에서 구입하여 사용하였다. 항암효과 측정을 위한 시약은 RPMI 1640 Medium, DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium), fetal bovine serum(FBS), penicillin/streptomycin, trypsin 250, 0.4% trypan blue stain은 Gibco BRL Co.(Grand Island, NY, USA) 및 haemocytometer(Marienfeld, Germany)에서 구입하여 사용하였으며, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide (MTT)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외의 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다.

시료 제조. 녹차(10kg)를 추출 탱크에서 60% 아세톤(50 l)에 침지하여 실온에서 24시간 방치 한 후 8,000 g에서 원심 분리(Hitachi, CR21, Tokyo, Japan)하여 상층액을 취했다. 침전물을 다시 60% 아세톤을 가하여 위와 같은 추출 과정을 3회 반복하여 상층액을 모은 다음 농축(N-N SERIES, Eyla, Tokyo, Japan) 여과(No. 2, Advantec, Tokyo, Japan)하여 클로로필을 제거한 여액을 회수하여 분리용 시료로 사용하였다. 분리용 Sephadex LH-20 column에 시료를 loading 하고, 전개 용매로는 methanol을 사용하여 methanol : D.I.-water(0 : 1 → 1 : 0)로 전개하여 분리시켰다. 각 분획물의 폴리페놀을 silicagel thin layer chromatography(TLC)로 전개시켜 발색시약으로 발색유무를 확인한 후 동결건조하여 (+)-catechin를 표준품으로 폴리페놀 함량을 정량하여 사용하였다(Fig. 1).

폴리페놀의 방사선 조사. 방사선 조사는 한국원자력 연구소 내 선원 10만 Ci, Co-60 방사선 조사 시설을 이용하여 분당 83.3 Gy의 선량율로 조사하였다. 선량은 5, 10, 20 kGy의 총 흡수선량을 얻어 본 실험의 시료로 사용하였다.

Table 1. The experimental formulation of the toner containing polyphenols

No.	Technical Name	INCI Name	Contents % (W/W)
1	D.I. water	Deionized Water	to 100
2	Glycerin	Glycerin	2
3	1,3-B.G	1,3-Butylene Glycol	3
4	Preservatives	Methyl (ethyl, propyl) paraben, Phenoxyethanol	Q.S
5	Ethanol	Alcohol	5
6	Cremophor RH 40	PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	0.8
7	Citric Acid	Citric Acid	0.04
8	Sodium Citrate	Sodium Citrate	0.1
9	Polyphenols		2

*Q.S. (Quantum sufficient: Proper quantity).

Table 2. The experimental formulation of the essence containing polyphenols

No.	Technical Name	INCI Name	Contents % (W/W)
1	D.I. water	Deionized Water	to 100
2	Glycerin	Glycerin	5
3	Aminocoat	Betain	7
4	PEG-1500	Polyethylene Glycol 1500	2
5	Preservatives	Methyl (ethyl, propyl) paraben, Phenoxyethanol	Q.S
6	Lubrajel DV	Polyglyceryl methacrylate/propylen	3
7	Carbopol 940	Carboxyvinylpolymer	0.3
8	T.E.A	Triethanolamine	0.3
9	Ethanol	Alcohol	4
10	Cremophor RH 40	PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	0.5
11	Polyphenols		2

*Q.S. (Quantum sufficient: Proper quantity).

총 폴리페놀 함량. 폴리페놀의 정량은 AOAC²⁷에 준하여 정량하였다. 즉, 100배 희석한 시료용액 3ml에 phenol reagent 시약 1ml를 가하고, 포화 Na₂CO₃ 용액 1ml를 가하여 혼합한 후 1시간 실온에서 방치하고, 1 N HCl 0.2 ml를 가하여 640 nm에서 흡광도를 측정한 후, 미리 작성한 표준곡선의 흡광도 값과 비교하여 폴리페놀 함량을 산출하였다.

폴리페놀을 첨가한 토너 및 에센스 제조 처방 및 방법. 녹차 폴리페놀을 첨가한 토너는 Table 1의 처방에 따라 제조하였다. 수상에는 보습제인 glycerin, 1,3-butylene glycol를 넣었으며, 에탄올상에는 가용화제인 PEG-40 hydrogenated castor oil을 넣고 각각 핸드믹싱한 후 혼합하였다. 혼합한 후 pH 조절제인 citric acid와 sodium citrate를 넣고, 녹차폴리페놀 2%를 넣어 혼합하여 본 실험에 사용하였다.

녹차폴리페놀을 첨가한 에센스는 Table 2의 처방에 따라 제조하였다. 수상에는 보습제인 glycerin, betain, polyethylene glycol 1500과 방부제를 넣어 80°C까지 가열하여 용해시킨 후, homo mixer(TK. Homo Mixer Mark II, Tokushu kika kogyo Co. Ltd., Osaka, Japan)를 이용하여 3,000 rpm에서 2분간 유회

하고, 미리 분산한 lubrajel DV와 점증제인 carbopol 940을 넣고 2분간 유화하였다. Triethanolamine(TEA)를 넣고 3분간 더 유화한 후, 에탄올상인 PEG-40 hydrogenated castor oil을 넣어 1분간 유화하고, 녹차폴리페놀 2%를 넣어 2분간 유화한 후 30°C까지 냉각하고 탈기하여 본 실험에 사용하였다.

색도 측정. 녹차폴리페놀을 첨가한 토너와 에센스의 색도 측정을 위하여 spectrophotometer(CM-3600d, MINOLTA, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 기계는 표준흑판 및 백판으로 표준화 시킨 다음 유리 cell에 시료 10 m/를 옮기고 이것을 hunter color값 즉, 명도(L: lightness), 적색도(a: redness), 황색도(b: yellowness)값으로 나타내었으며, 3회 반복하여 평균값을 나타내었다.

항암 효과

세포배양. 본 실험에 이용한 각 세포의 배양은 10% fetal bovine serum(FBS)과 1% penicillin/streptomycin(100 U/m)을 첨가한 RPMI 1640 및 DMEM 배지를 사용하였으며, 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

적정 접종 세포수 결정. 항암효과 측정을 위한 지수기의 적정 세포 수 측정은 96 well plate에 5×10⁴ cells/well이 되게 0.18 ml 분주한 후 세포밀도를 1/2로 희석하면서 접종한 후 37°C, 5% CO₂ 상에서 4일간 배양하였다. 여기에 5 mg/ml의 농도로 제조한 MTT 용액 0.02 ml/를 첨가하여 4시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO: ethanol(1:1)용액 0.15 ml/를 가하여 30분간 교반한 뒤 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

MTT assay에 의한 항암 효과 측정. 암세포 주에 대한 증식 억제효과는 Carmichael의 방법²⁸에 따라 측정하였다. 각 암세포주를 96 well plate에 0.6~8×10³ cells/well이 되게 0.18 ml 분주하고 시료를 농도 별로 조제하여 0.02 ml 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 대조군은 시료와 동량의 증류수를 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 여기에 5 mg/ml 농도로 제조한 MTT 용액 0.02 ml/를 첨가하여 4시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO: ethanol(1:1) 0.15 ml/를 가하여 실온에서 30분간 반응 시킨 뒤 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 암세포주의 성장억제효과는 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{증식 억제율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

통계처리. 결과 통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하였으며, 유의차 검증은 분산분석(ANOVA: analysis of variance)을 한 후 α=0.05 수준에서 Duncan의 다중검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

TLC에 의한 폴리페놀 동정. 녹차로부터 분리된 폴리페놀 동정을 확인하기 위해 silica TLC plate를 이용하여 전개시킨 결과 Fig. 2와 같이 나타났다. 분획물을 silica TLC plate에서 전개 후 anisaldehyde-H₂SO₄ 및 1% FeCl₃-MeOH 용액으로 발색

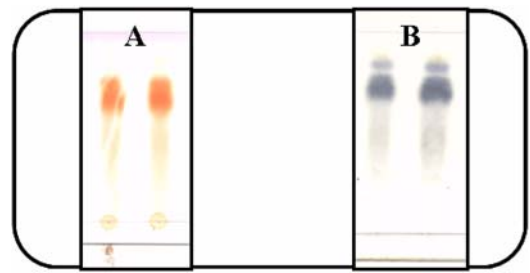


Fig. 2. Thin layer chromatogram of the polyphenols isolated from green tea. Developing solvent-benzen : ethylformate : formic acid = 2 : 7 : 1, Colorization reagent-A: anisaldehyde-H₂SO₄, B: FeCl₃-MeOH, Polyphenol contents-A: 1 mg/ml, B: 1 mg/ml.

Table 3. The contents of total polyphenols

Polyphenol content (g/g)	
Polyphenols isolated from green tea	0.94 ± 0.04

Table 4. Changes in the hunter color values of irradiated toner at different doses

Sample	Color	dose (kGy)			
		0	5	10	20
NT ¹	L ³	99.340	99.503	99.486	99.545
	a ⁴	-0.016	-0.013	-0.016	-0.023
	b ⁵	0.377	0.288	0.314	0.288
PT ²	L	38.431	76.370	78.193	79.734
	a	23.968	10.177	88.4827	7.2207
	b	38.431	35.0775	33.497	32.424

¹NT: Irradiated normal toner.

²PT: Irradiated polyphenol toner.

³: Lightness, ⁴: Redness, ⁵: Yellowness.

Table 5. Changes in the hunter color values of irradiated essence at different doses

Sample	Color	dose (kGy)			
		0	5	10	20
NE ¹	L ³	59.066	58.411	58.222	54.862
	a ⁴	-1.087	-1.066	-1.042	-0.969
	b ⁵	-5.057	-5.201	-5.072	-4.903
PE ²	L	28.293	29.669	31.467	31.828
	a	2.514	1.193	0.954	0.853
	b	4.951	4.717	4.469	3.957

¹NE: Irradiated normal essence.

²PE: Irradiated polyphenol essence.

³: Lightness, ⁴: Redness, ⁵: Yellowness.

시켰을 때, 각각 주황색과 청색의 정색 반응을 나타내었다. 이는 녹차로부터 분리된 폴리페놀이 축합형 탄닌인 flavan-3-ol 화합물임을 확인할 수 있었다. 녹차의 기능성분으로 잘 알려진 폴리페놀류 중 flavan-3-ol을 기본으로 하는 catechin은 (+)-catechin, (-)-epicatechine, (-)-epigallo catechine gallate, (+)-gallocatechin 등이 주성분으로 알려져 있다^{29,30}.

총 폴리페놀 함량측정. 녹차로부터 분리된 분획물의 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 분획물의 폴리페놀 함량이 94% 이상으로 높은 함량을 나타내었다. 식물이 함유하

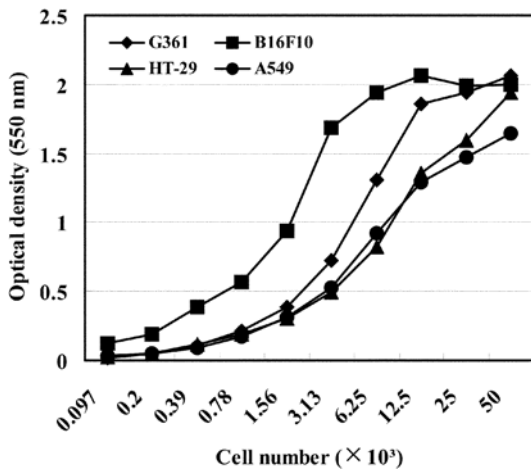


Fig. 3. Change of optical density by the increment of cells. -◆-: human melanoma (G361), -■-: mouse melanoma (B16F10), --▲-: colon cancer (HT-29), -●-: lung cancer (A549).

고 있는 페놀화합물들의 양은 항산화효과 등 생리활성의 간접적인 지표가 된다³¹⁾. 따라서 녹차부터 분리된 폴리페놀도 생리활성효과를 나타낼 것으로 사료된다.

녹차폴리페놀이 첨가된 토너 및 에센스의 색도 측정 결과, 녹차 폴리페놀이 첨가되지 않은 토너 및 에센스와 녹차 폴리페놀이 2% 첨가된 토너 및 에센스의 색도를 측정 한 결과 Table 4, 5와 같이 나타내었다. 녹차 폴리페놀을 첨가하지 않은 토너 및 에센스의 경우 명도(L), 적색도(a), 황색도(b)값 모두 방사선 조사선량에 따른 차이는 나타나지 않았다. 녹차 폴리페놀이 첨가된 토너는 방사선 조사선량(0, 5, 10, 20 kGy)이 증가 할수록 명도(L)값이 38.431, 76.370, 78.193, 79.734로 증가하여 밝아짐을 확인 할 수 있었으며, 적색도(a)값은 23.968에서 7.227로 감소하였고, 황색도(b)값도 38.431에서 32.424로 나타내어 조사선량이 증가 할수록 감소하는 경향을 나타내었으며, 이는 폴리페놀이 첨가된 토너의 색이 방사선 조사선량에 비례하여 얼어짐을 확인 할 수 있었다. 녹차 폴리페놀이 첨가된 에센스의 경우 명도(L)값이 방사선 조사선량이 증가 할수록 28.293에서 31.828로 증가하여 밝아지는 것을 확인 할 수 있었으며, 적색도(a), 황색도(b)값은 조사선량이 증가 할수록 감소하여 색이 얼어지는 것을 확인 할 수 있었다. 이는 녹차 폴리페놀을 화장품에 첨가할 경우 폴리페놀 고유의 색이 짙어 문제가 되나, 위와 같은 결과로 미루어 보아 방사선조사로 인해 문제를 해결 할 수 있을 것으로 사료된다.

적정 접종 세포수 결정. 실험에 사용되는 암 세포들을 배양 하던 2~24시간에서 세포증식이 이루어지지 않는 lag phase를 거쳐 대수성장을 하는 log phase로 이르게 된다. 이러한 log phase는 각 세포주마다 특이하여 각 세포주 특유의 lag phase 시간, population doubling time, plateau phase에서의 세포 포화 밀도를 가지게 된다. 대수성장기에는 암세포의 성장이 활발하여 MTT의 환원작용도 활발하여 살아있는 세포의 수가 흡광도에 비례적으로 반영되므로 접종되는 세포의 수는 대수기의 세포농도를 기준으로 선택되어야 한다. MTT 실험에서 적정 세

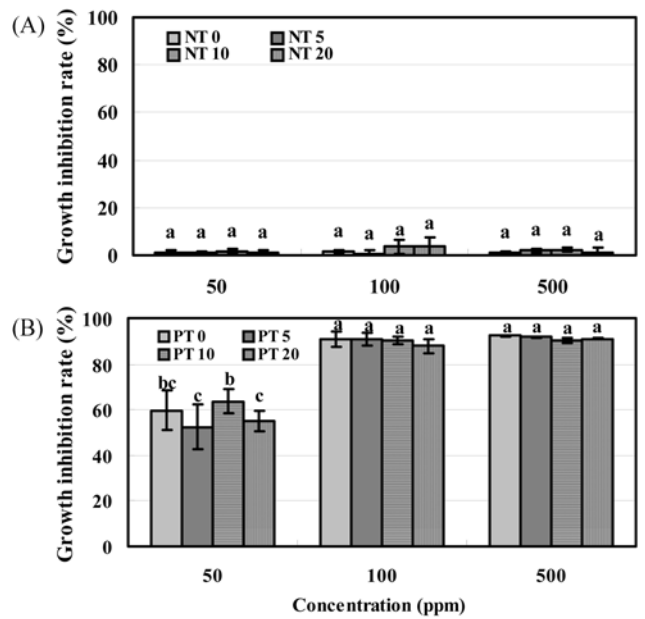


Fig. 4a. Growth inhibition rate of irradiated toner on human melanoma (G361). A: normal toner, B: polyphenol toner, NT 0: non-irradiated normal toner, NT 5: irradiated normal toner at 5kGy, NT 10: irradiated normal toner at 10kGy, NT 20: irradiated normal toner at 20 kGy. PS 0: non-irradiated polyphenol toner, PT 5: irradiated polyphenol toner at 5 kGy, PT 10: irradiated polyphenol toner at 10 kGy, PT 20: irradiated polyphenol toner at 20 kGy. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

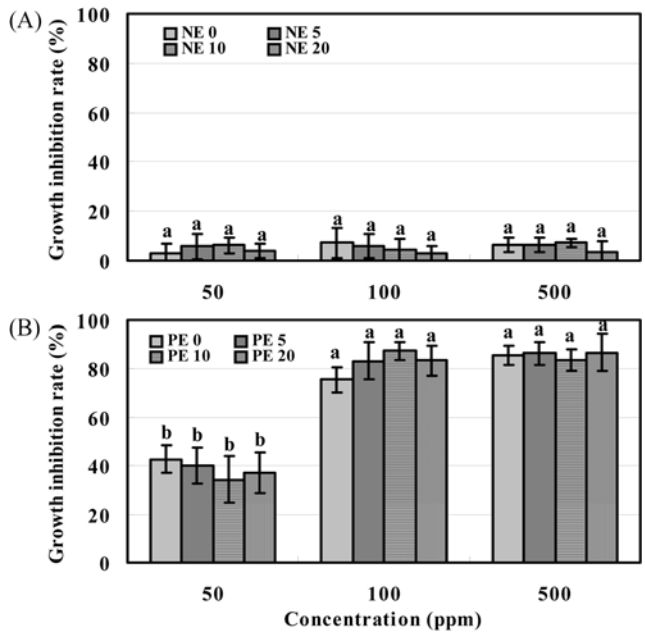


Fig. 4b. Growth inhibition rate of irradiated essence on human melanoma (G361). A: normal essence, B: polyphenol essence, NE 0: non-irradiated normal essence, NE 5: irradiated normal essence at 5 kGy, NE 10: irradiated normal essence at 10 kGy, NE 20: irradiated normal essence at 20 kGy. PE 0: non-irradiated polyphenol essence, PE 5: irradiated polyphenol essence at 5 kGy, PE 10: irradiated polyphenol essence at 10 kGy, PE 20: irradiated polyphenol essence at 20 kGy. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

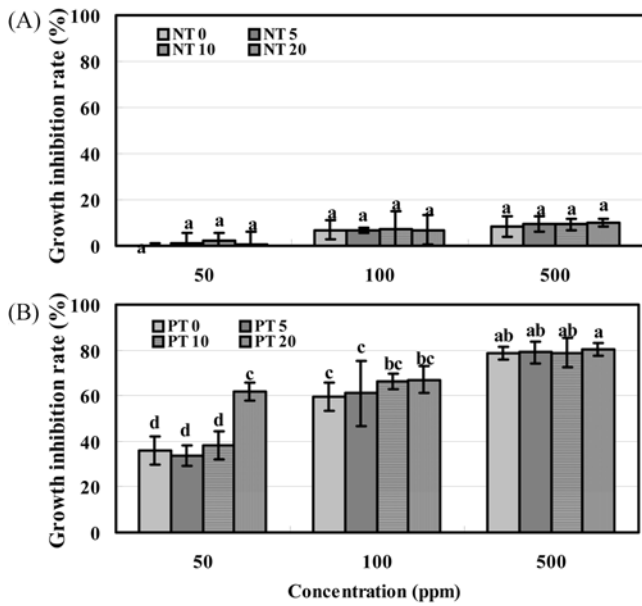


Fig. 5a. Growth inhibition rate of irradiated toner on mouse melanoma (B16F10). A: normal toner, B: polyphenol toner, NT 0: non-irradiated normal toner, NT 5: irradiated normal toner at 5 kGy, NT 10: irradiated normal toner at 10 kGy, NT 20: irradiated normal toner at 20 kGy. PT 0: non-irradiated polyphenol toner, PT 5: irradiated polyphenol toner at 5 kGy, PT 10: irradiated polyphenol toner at 10 kGy, PT 20: irradiated polyphenol toner at 20 kGy. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

포농도를 사용하였을 때 세포의 농도와 흡광도 사이에 직선적인 상관관계를 보이며 적정농도 이상이나 이하의 세포농도를 사용하게 되면 세포의 농도와 흡광도 사이에 직선적인 상관관계가 왜곡되므로 적정 접종세포의 수가 먼저 결정되어야 한다. 따라서 항암효과 측정을 위한 적정 세포수의 측정 결과는 Fig. 3과 같이 나타내었다. 흡광도 0.6-0.7의 부위에서 마우스로부터 유래된 흑색종(B16F10)은 0.78×10^3 cell, 인간으로부터 유래된 흑색종(G361)은 3.13×10^3 cells, 폐암 세포(A549) 및 결장암 세포(HT-29)는 4.7×10^3 cells의 농도로 결정하여 항암 효과를 측정하였다.

항암 효과 확인. 녹차 폴리페놀을 첨가한 토너 및 에센스, 폴리페놀 무첨가 토너 및 에센스의 방사선 조사구 및 비조사구의 항암 효과 및 방사선 조사에 따른 영향을 측정된 결과 Fig. 4-7과 같이 나타내었다. 폴리페놀을 첨가한 토너와 에센스는 모든 세포주에 대하여 500 ppm에서 80.0% 이상의 증식 억제능을 나타내었으며, 특히 인간으로부터 유래된 흑색종(G361)에 대하여 100 ppm에서 80.0% 이상의 암세포 증식 억제능을 나타내었다. 또한, 폐암세포(A549)에 대하여 100 ppm에서 55.0% 이상의 증식 억제능을 나타내었고, 마우스로부터 유래된 흑색종(B16F10)에 대해서는 500 ppm에서 75.0% 이상의 암세포 증식 억제능을 나타내었다. 이는 Kim 등³²⁾이 보고한 솔잎 추출물의 *in vitro* 암세포 성장억제효과에 대한 억제능을 보았을 때 A549에 대하여 1 mg/ml 투여 시 잣나무 85.99%, 적송 75.45%, 라가다 77.59%, 곰솔 66.38%의 증식 억제능을 나타내었으며, Hwang 등³³⁾이 보고한 lectin으로 강화한 겨우살이 추출물의 피

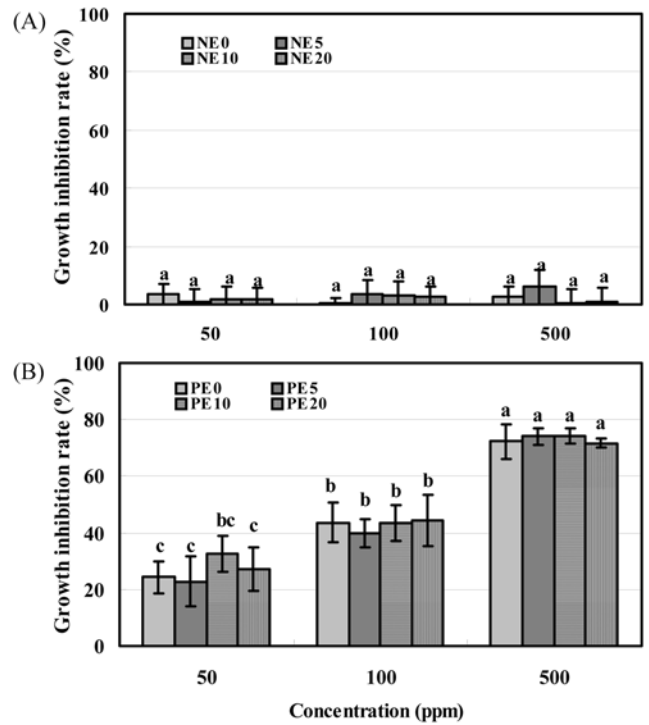


Fig. 5b. Growth inhibition rate of irradiated essence on mouse melanoma (B16F10). A: normal essence, B: polyphenol essence, NE 0: non-irradiated normal essence, NE 5: irradiated normal essence at 5 kGy, NE 10: irradiated normal essence at 10 kGy, NE 20: irradiated normal essence at 20 kGy. PE 0: non-irradiated polyphenol essence, PE 5: irradiated polyphenol essence at 5 kGy, PE 10: irradiated polyphenol essence at 10 kGy, PE 20: irradiated polyphenol essence at 20 kGy. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

부암에 대한 항암효과에서 B16F10에 대하여 IC_{50} 값이 101.4 ± 9.7 을 나타내어 폴리페놀을 첨가한 토너 및 에센스와 비교한 결과 암세포 성장 억제능이 더 우수함을 확인할 수 있었으며, 방사선 조사량에 따른 암세포증식 억제능의 변화는 나타나지 않아 활성이 유지됨을 확인할 수 있었다.

초 록

화장품에 폴리페놀을 다량 첨가 시 색소가 문제시 될 수 있어 이를 제거하기 위하여 폴리페놀을 첨가한 토너와 에센스에 방사선을 5, 10, 20 kGy로 조사하고, 조사량에 따른 암세포증식 억제능을 검토하였다. 암세포 증식 억제능 측정 결과 모든 세포주(B16F10, G361, A549, HT-29)에 대하여 폴리페놀이 첨가된 토너와 에센스는 500 ppm에서 80% 이상의 증식 억제능을 나타내었으며, 특히 human melanoma(G361)에서는 100 ppm에서 80% 이상의 뛰어난 암세포 증식 억제 효과를 나타내었으며, 방사선 조사량이 증가해도 폴리페놀의 활성이 유지되었다. 또한, 방사선 조사량이 증가 할수록 색이 점차적으로 옅어짐을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과로 미루어 보아 녹차 폴리페놀을 토너와 에센스에 첨가했을 때 암세포증식 억제능이 우수하였으며, 화장품에 첨가 시 나타나는 색소문제는 방사선 조사를 이용하여 개선이 될 것으로 사료된다.

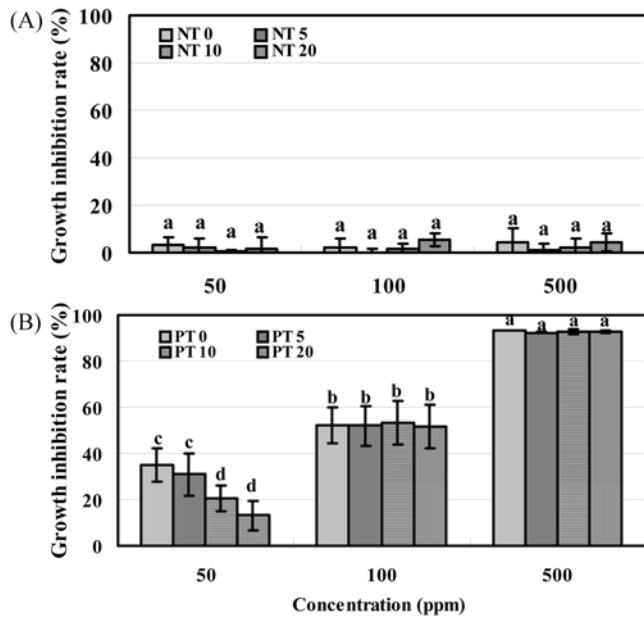


Fig. 6a. Growth inhibition rate of irradiated toner on lung cancer (A549). A: normal toner, B: polyphenol toner, NT 0: non-irradiated normal toner, NT 5: irradiated normal toner at 5 kGy, NT 10: irradiated normal toner at 10 kGy, NT 20: irradiated normal toner at 20 kGy. PT 0: non-irradiated polyphenol toner, PT 5: irradiated polyphenol toner at 5 kGy, PT 10: irradiated polyphenol toner at 10 kGy, PT 20: irradiated polyphenol toner at 20 kGy. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

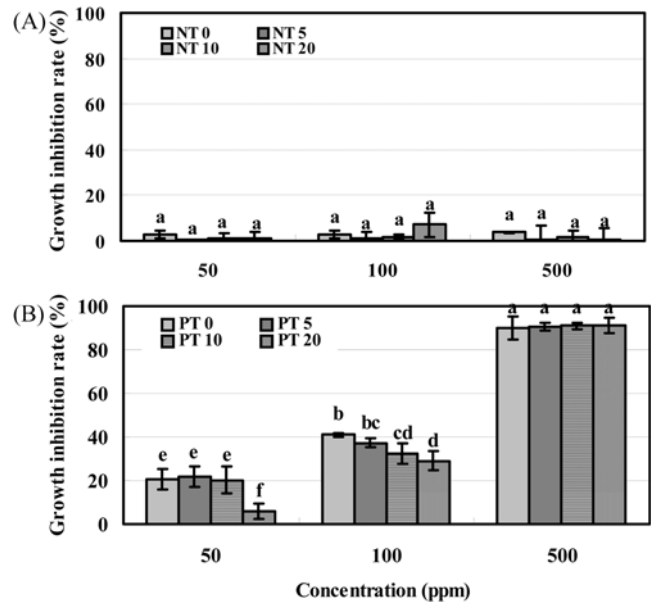


Fig. 7a. Growth inhibition rate of irradiated toner on colon cancer (HT-29). A: normal toner, B: polyphenol toner, NT 0: non-irradiated normal toner, NT 5: irradiated normal toner at 5 kGy, NT 10: irradiated normal toner at 10 kGy, NT 20: irradiated normal toner at 20 kGy. PT 0: non-irradiated polyphenol toner, PT 5: irradiated polyphenol toner at 5 kGy, PT 10: irradiated polyphenol toner at 10 kGy, PT 20: irradiated polyphenol toner at 20 kGy. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

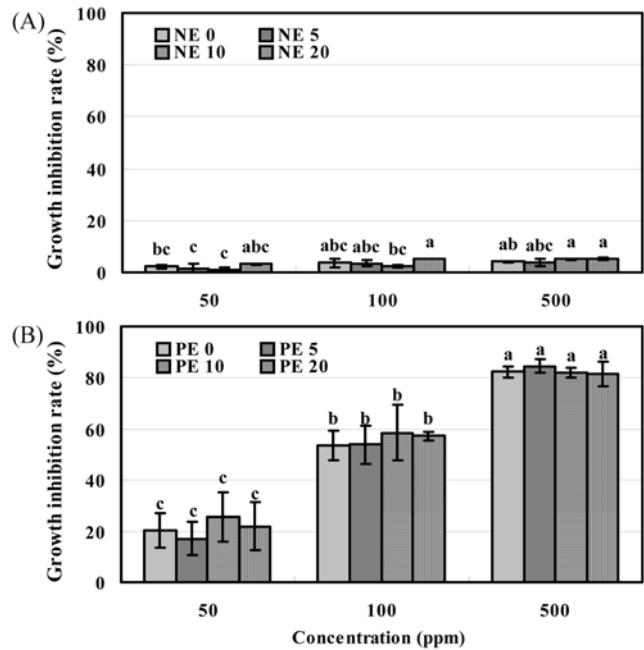


Fig. 6b. Growth inhibition rate of irradiated essence on lung cancer (A549). A: normal essence, B: polyphenol essence, NE 0: non-irradiated normal essence, NE 5: irradiated normal essence at 5 kGy, NE 10: irradiated normal essence at 10 kGy, NE 20: irradiated normal essence at 20 kGy. PE 0: non-irradiated polyphenol essence, PE 5: irradiated polyphenol essence at 5 kGy, PE 10: irradiated polyphenol essence at 10 kGy, PE 20: irradiated polyphenol essence at 20 kGy. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

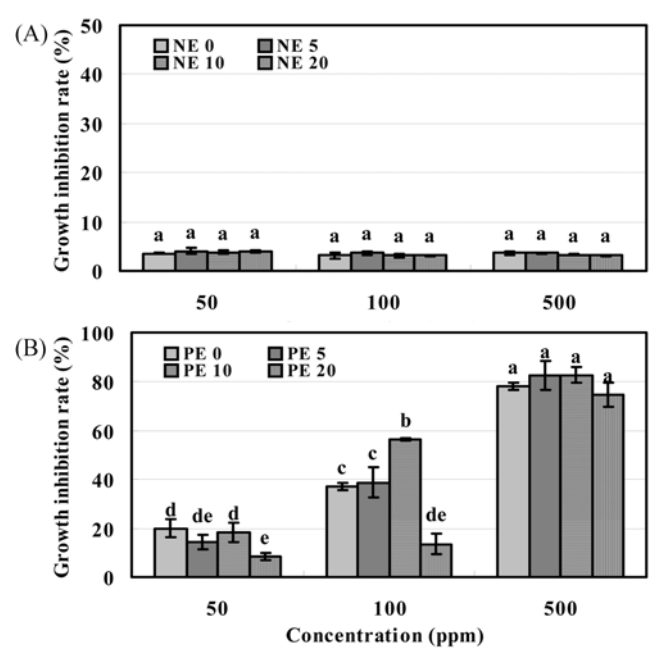


Fig. 7b. Growth inhibition rate of irradiated essence on colon cancer (HT-29). A: normal essence, B: polyphenol essence, NE 0: non-irradiated normal essence, NE 5: irradiated normal essence at 5 kGy, NE 10: irradiated normal essence at 10 kGy, NE 20: irradiated normal essence at 20 kGy. PE 0: non-irradiated polyphenol essence, PE 5: irradiated polyphenol essence at 5 kGy, PE 10: irradiated polyphenol essence at 10 kGy, PE 20: irradiated polyphenol essence at 20 kGy. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

참고문헌

1. Tirimanna, A. S. and Wickremasinghe. (1966) Occurrence of vitamin E in black tea. *Chem. Ind.* **41**, 1719.
2. Serafini, M., Ghiselli, A. and Ferro-Luzzi, A. (1996) In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur. J. Clin. Nutr.* **50**, 28-32.
3. Graham, H. N. (1992) Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev. Med.* **21**, 334-350.
4. Muramatsu, K., Fukuyo, M. and Hara, Y. (1986) Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **32**, 613-622.
5. Ho, C. T., Chen, Q., Shi, H., Zhang, K. Q. and Rosen, R. T. (1992) Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Prev. Med.* **21**, 520-525.
6. Nakachi, K., Suga, K. and Imai, K. (1995) Preventive effects of drinking green tea on cardiovascular disease and cancer. *The 3rd International Symposium on Green tea, Korea.* **28**, 11-16.
7. Lee, S. J., Kim, M. J. and Yoon, Y. H. (1995) Effect of Korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the removal of cadmium and antioxidative detoxification in cadmium administered rats. *The 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea.* **3**, 21-38.
8. Hara, Y. and Ishigami, T. (1989) Antibacterial activities of tea polyphenols against foodborne pathogenic bacteria. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* **36**, 996-999.
9. Cao, J. (1995) External test and clinical observation and evaluation of the caries preventive effect of tea. *The 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea.* **28**, 59-63.
10. Chung, H. Y. and Yokozawa, T. (1995) Studies on antioxidative and antimutagenic mechanism of epicatechin 3-O-gallate isolated from green tea. *The 3rd International Symposium of Green Tea, Seoul, Korea.* **3**, 65-81.
11. Kim, J. K., Cha, W. S., Park, J. H., Oh, S. L., Cho, Y. J., Chun, S. S. and Choi, C. (1997) Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 173-177.
12. Choi, S. H. and Bae, J. E. (1996) The aroma components of green tea, the products of Mt, Chiri garden. the product of Mt. Chiri garden. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **25**, 478-483.
13. Choi, S. I., Lee, J. H. and Lee, S. R. (1994) Effect of Green Tea Beverage on the Removal of Cadmium and Lead by Membrane Filtration. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 740-744.
14. Lee, S. R., Choi, S. I. and Lee, J. H. (1994) Effect of Green Tea Beverage on the Removal of Cadmium and Lead by Animal Experiments. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 745-749.
15. Kartner, N. and Ling, V. (1989) Multidrug resistance in cancer. *Sci. Am.* **260**, 44-51
16. Susman, E. J., Hersh, S. P., Nannis, E. D., Strobe, B. E., Woodruff, P. J., Pizzo, P. A. and Levine A. S. (1982) Conceptions of cancer: the perspectives of child and adolescent patients and their families. *J. Pediatr. Psychol.* **7**, 253-261.
17. Haskell, C. M. (1977) Immunologic aspects of cancer chemotherapy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **17**, 179-195
18. Powell, C. B., Fung, P., Jackson, J., Dall'Era, J., Lewkowicz, D., Cohen, I. and Smith-McCune, K. (2003) Aqueous extract of herba *Scutellaria barbatae*, a chinese herb used for ovarian cancer, induces apoptosis of ovarian cancer cell lines. *Gynecol Oncol.* **91**, 332-340.
19. Mori, H., Xu, Q.A., Sakamoto, O., Uesugi, Y., Ono, Y., Koda, A. and Nishioka, I. (1988) Immunological mechanisms of antitumor activity of some kinds of Chinese herbs: Meth A-induced delayed type hypersensitivity. *Jpn. J. Pharmacol.* **48**, 37-46.
20. Hayashi, T. (1991) Comparative effectiveness of gamma-rays and electron beams in food irradiation. *In Food Irradiation* 2nd ed. Elsevier, London 169-206.
21. Kim, W. S., Chung, M. S., and Ko, Y. T. (1998) Effects of low dose gamma ray and electron beam irradiation on growth of microorganisms in beef during the refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **18**, 232-239
22. Vieira, F. F., and Mastro, N. L. (2002) Comparison of γ -radiation and electron beam irradiation effects on gelatin. *Radiat. Phys. Chem.* **63**, 331-332.
23. Davies, K. J., and Delsignore, M. E. (1987) Protein damage and degradation by oxygen radicals: III. Modification of secondary and tertiary structure. *J. Biol. Chem.* **262**, 9908-9913.
24. Moon, S., and Song, K. B. (2001) Effect of γ -irradiation on the molecular properties of ovalbumin and ovomucoid and protection by ascorbic acid. *Food Chem.* **74**, 479-483.
25. Son, J.H., Jo, C., Byun, M.W., Kim M. R. and Kim J. O. (2001) Research Notes: Effect of Gamma Irradiation on Removal of Undesirable Color from Green Tea Extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 1305-1308.
26. Jo, C., Son, J. H., and Byun, M. W. (2003) Irradiation application for color removal and purification of green tea leaves extract. *Radiat. Phys. Chem.* **66**, 179-184
27. Association of Analytical Chemists INC. (1984) Association of Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC. 14th ed. Washington (DC).
28. Carmichael, J. DeGraff, W. G., Gazdar, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. (1987) Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.* **47**, 936-942.
29. Jean, A. T. P. (2002) Food Composition Databases for Bioactive Food Components. *Journal of Food Composition and Analysis* **15**, 419-434.
30. Ohmori, Y., Ito, M., Kishi, M., Mizutani, H., Katada, T. and Konishi, H. (1995) Antiallergic constituents from oolong tea stem. *Biol. Phram. Bull.* **18**, 683-686.
31. Jung, M. S., Lee, G. S. and Chae, H. J. (2004) in vitro biological activity assay of ethanol extract of radish. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **47**, 67-71
32. Kim, E.J., Jung, S.W., Choi, K.P., and Ham., S.S. (1998) Cytotoxic Effect of the Pine needle extracts. *Korea J. Food Sci. Technol.* **30**, 213-217
33. Hwang, S. Y., Yang, E. Y., Yeo, J. H., Jin, J. Y., Kim, H. S., Park, W. B. and Suh, J. J. (2003) Anti-tumor Effect of Korean Mistletoe Extract Intensified with Mistletoe Lectin against Melanoma Cells *in vitro* and *in vivo*. *Korean J. Pharmacogn.* **34**, 218-222