

녹차로부터 EGCG(Epigallocatechin Gallate)의 추출 및 정제

강 지 훈 · 박 영 광 · 정 성 택 · †노 경 호

인하대학교 화학공학과

(접수 : 1999. 4. 2., 게재승인 : 1999. 6. 11.)

Extraction and Purification of EGCG(Epigallocatechin Gallate) from Green Tea

Ji Hoon Kang, Young Kwang Park, Sung Taik Chung, and Kyung Ho Row[†]

Dept. of Chem. Eng., Inha University, Inchon 402-751, Korea

(Received : 1999. 4. 2., Accepted : 1999. 6. 11.)

A green tea used in this experiment was cultivated at Bosung (Chonnam) and purchased from a domestic market. The extract at 50°C water from the powder of green tea was partitioned with chloroform and ethyl acetate. The resulting solution was further purified with a chromatographic column (4.6×250 mm, 15 μm, Lichrospher 100RP-18). Finally separation was achieved on a μ-Bondapak C₁₈ (3.9×300 mm, 10 μm) column. The elution order of the catechin compounds contained in the green tea was EGC(Epigallocatechin), C(catechin), EC(Epicatechin), EGCG(Epigallocatechin Gallate) and ECG(Epicatechin Gallate). From the experimental results the mobile phase for isolating EGCG from the extract consisted of 0.1% acetic acid in water/acetonitrile, 87/13 % (v/v). The flow rate of mobile phase was 1.0 mL/min, and UV wavelength was fixed at 280 nm. 121.3 mg of EGCG, higher than 98% of purity, was obtained from 5 g of dry green tea.

Key Words : green tea, epigallocatechin gallate (EGCG), extraction, purification, HPLC

서 론

녹차의 생리 활성 물질인 카테킨 화합물을 추출 및 정제과정이 복잡하고 수율이 낮고 가격이 비싸다는 단점뿐만 아니라 이 성분과 생체내에서의 작용에 관련된 연구는 많지 않다. 그러나, 1980년대 이후 녹차에 함유된 카테킨 화합물에 항산화 효과가 있다는 연구 결과가 보고되고 최근에는 특히 심이지장암, 결장암, 피부암, 위암, 폐암 및 유방암, 간암, 대장암, 식도암, 췌장암 등을 억제하고 방광암, 전립선암, 자궁경부암의 예방에 효과가 있다고 알려졌다(1-5). 이러한 항암작용 뿐만 아니라 치매예방, 에이즈 바이러스 억제 및 전자파 방어효과, 환경호르몬(내분비계 교란화학물질)인 다이옥신이 소화관에서 흡수되는 것을 억제하고 변증의 배설량을 늘리며 간장에 분포되는 양을 줄이는 등의 다양한 효능이 보고되고 있다. 녹차의 카테킨 화합물 중 가장 관심을 모으는 물질은 EGCG(Epigallocatechin Gallate)로서, 가장 강력한 효능을 지닌 것으로 평가되고 있다(6). EGCG의 화학적 구조식은 C₂₂H₁₈O₁₁이고 [2R,3R]-2-[3,4,5-Trihydroxyphenyl]-3,4-dihydro-1[2H]-benzopyran-3,5,7-triol 3-[3,4,5-trihydroxybenzoate]로서 지칭되고 있

다. EGCG는 항산화제로 널리 이용되는 비타민 E보다 25배, 비타민 C보다 100배 더 효능이 있다. 또한, EGCG는 정상세포에 영향을 끼치지 않고, 여러 암세포를 죽이는 무독성 항암제로 인식되면서 더 많은 관심의 대상이 되고 있으며(7), 최근에 미국 페듀대학 도로시 모어라이와 제임스 모어라이 부부교수팀은 녹차의 EGCG라는 화합물이 암세포 성장에 필요한 효소의 분비를 억제해 암세포를 죽인다는 사실을 입증하여 녹차의 항암 메커니즘을 처음으로 밝혀냈다. 따라서 EGCG와 다른 카테킨 화합물 및 녹차의 효능에 대한 연구개발이 더욱 활발히 진행되고 있다.

Goto 등은 녹차를 acetonitrile-water(1:1, v/v)로 추출하여 Develosil ODS-HG column에 water-acetonitrile-85% phosphoric acid(95.45 : 4.5 : 0.05, v/v), water-acetonitrile-85% phosphoric acid(49.95 : 50.0 : 0.05, v/v)의 이동상 조건에서 HPLC를 이용하여 분석하였고(8), Okushio 등은 Capcell-pak C-18 AG column을 사용하여 acetonitrile-ethyl acetate-0.05% phosphoric acid aqueous solution(12 : 2 : 86)의 이동상에서 분석을 하였고(9), Bronner 등은 C₁₈ column에 acetonitrile-acetate, acetonitrile-ascorbate, methanol-acetate의 이동상으로 녹차, 자스민차, 홍차에 함유되어 있는 카테킨 화합물을 분리하고 정량하였다(10). 국내에서는 80°C의 열수로 녹차를 추출하여 농축하고 ethyl acetate로 분배한 후 Cosmosil 5C₁₈ column에 20% methanol과 80% acetonitrile을 각각 이동상으로 HPLC로 분리하였고(11), 녹차를 85°C로 유지하면서 수침하여 추출하고, Lichrosorb RP-18 column에 25% THF-1% phosphate를 이동상으

† Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, Inha University, Inchon 402-751, Korea

Tel : 032-860-7470, Fax : 032-872-0959

E-mail : rowkho@dragon.inha.ac.kr

로 카테킨 화합물의 카드뮴 제거 작용에 관한 연구를 하였다 (12).

고순도 분리 정제 기술은 현재 대부분을 수입에 의존하고 있는 국내 항암제 시장을 활성화시킬 뿐만 아니라 의약 및 제약산업의 실질적 성장을 가져올 것이다. 따라서 녹차에 많이 함유되어 있는 카테킨 화합물의 추출조건과 정제, 분석조건을 확립하고, semi-preparative HPLC로 정제를 하여 최종 물질인 EGCG를 얻는 것이 본 연구의 목적이다. 추출조건을 확립하기 위해서 조업온도, 교반속도, 침적시간을 변화시켰고, 제조용 규모의 정제 및 분리조건을 확립하기 위해서 acetonitrile, water, acetic acid 등의 이동상을 사용하여 조성을 변화시키면서 최종물질인 EGCG를 얻기 위한 최적조건을 구하는 것이다.

재료 및 방법

시약 및 기기

녹차는 전라남도 보성에서 1997년에 재배된 네물차(9~10월)를 구입하여 사용하였으며, 표준시료 물질인 (\pm)-Catechin(C), (-)-Epicatechin(EC), (-)-Epigallocatechin Gallate(EGCG), (-)-Epigallocatechin (EGC), (-)-Epicatechin Gallate(ECG)는 Janssen Chimica와 SIGMA에서 구입하였고, 이동상으로는 J. T. Baker사의 methanol, acetonitrile과 2차 중류한 중류수를 감압 펌프(Division of Millipore, Waters)와 필터(FH-0.5 μm)를 이용하여 감압 여과 한 후에 사용하였다.

실험에 사용된 2개의 Waters사 HPLC의 시스템 구성은 각기 다음과 같다. 펌프(multisolvent delivery system)는 600E, 616이고, detector는 486 UV-visible tunable wavelength absorbance, 2486 Dual λ absorbance detector이고, 주입기는 U6K 주입기(2 mL sample loop), Rheodyne 주입기(2 mL sample loop)를 사용하였고, 데이터 저장 시스템(data acquisition system)은 CHROMATE(ver. 3.0, Interface Eng.)와 Millennium³²(Waters)를 사용하였다. 본 실험에서 semi-preparative HPLC는 크기가 15 μm 인 Lichrospher 100RP-18 충전물(Merck Co.)을 column(4.6×250 mm)에 실험실에서 충전하여 사용하였고, 분석용 HPLC는 μ -Bondapak column(3.9×300 mm, 10 μm , Waters Co.)을 사용하였다. 추출 후 시료를 농축하기 위해서 회전식 증발기(LABO-THERM SW 200, Resona Technics Co.)를 사용하였다.

실험방법

전라남도 보성에서 1997년에 재배된 네물차(9~10월) 녹차 5 g에 순수한 물 150 mL를 넣고 조업온도, 교반속도, 침적시간에 변화를 주면서 교반기에서 교반하여 추출을 하였다. 추출이 끝난 추출액은 원심분리기에서 10분 동안 4000 rpm으로 원심분리한 후, 여과하여 회전식 증발기를 사용하여 60°C 이하에서 농축하였다. 농축액에서 불순물을 제거하기 위해 chloroform을 이용하여 1:1(%(v/v))로 분배한 후, 물층을 다시 ethyl acetate를 이용하여 1:1(%(v/v))로 분배하였다.

정제는 semi-preparative HPLC를 이용하였고, column은 크기가 15 μm 인 Lichrospher 100RP-18 충전물이 채워진 column(4.6×250 mm)을 사용하였다. 카테킨 화합물은 매우 유사한 화학구조를 갖기 때문에 분리하기가 어렵기 때문에 녹차로부터 카테킨 혼합물을 분리하기 이전에 이 표준시료의 혼합물을 이용하여 크

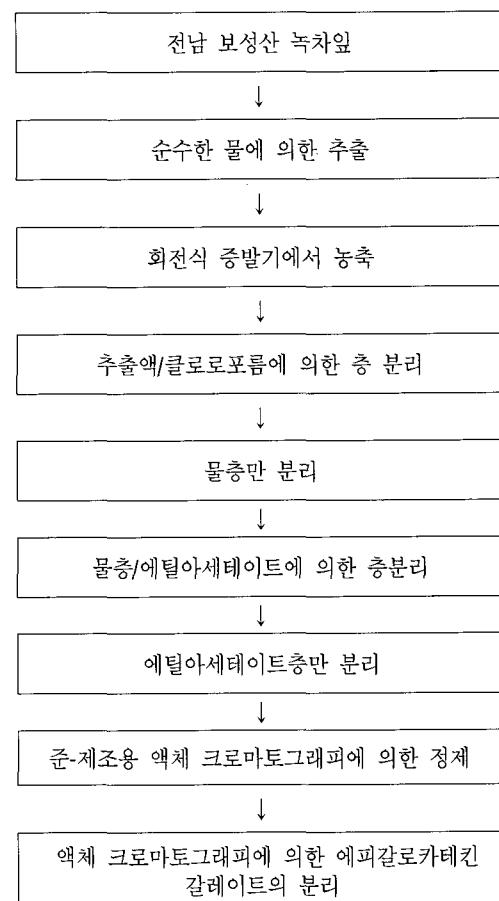


Figure 1. Extraction procedure from green tea.

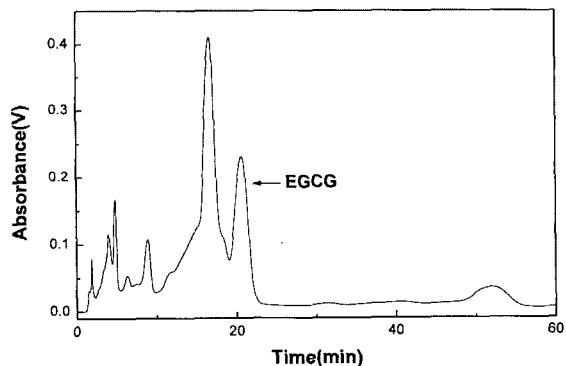
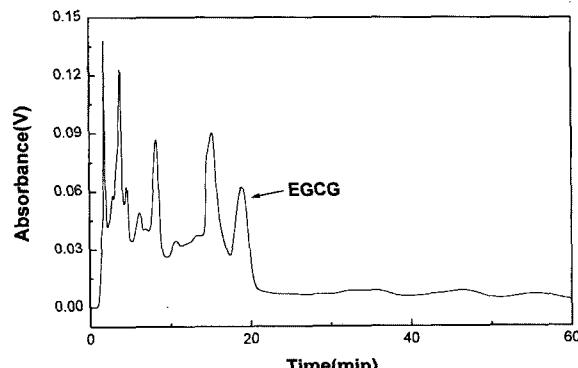
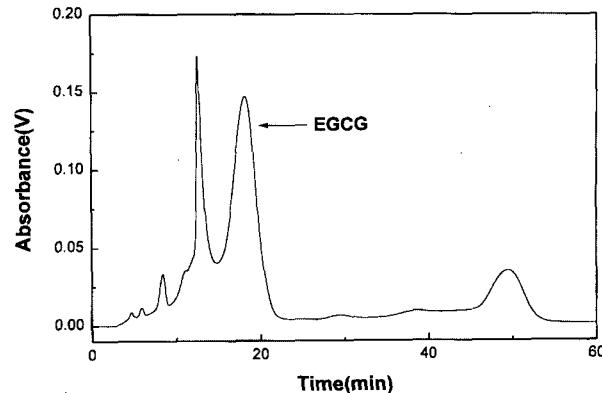
로마토그래피의 분리조건을 얻고자 한다. 이동상의 조성은 0.1% acetic acid를 포함한 water/acetonitrile, 87/13 %(v/v)이었다. 유량은 1.0 mL/min, UV 검지기의 wavelength는 280 nm로 고정하였다. 추출액중에서 EGCG를 정제하고 회전식 증발기를 사용하여 60°C 이하에서 농축하였다. 분석용 μ -Bondapak column의 이동상의 조성, 유량, UV 검지기 wavelength는 semi-preparative와 동일하였다. Figure 1에서는 추출 및 정제공정을 도식적으로 나타내었다. Figure 1에서 보면 추출과 분배공정은 기존의 국내외 연구와 유사하지만, 항암성 고부가가치 물질인 EGCG만을 얻기 위해 그 이후 단계에서는 역상 액체 크로마토그래피를 이용하였다. 15 μm packing의 준제조용 액체 크로마토그래피에 의하여 정제를 하였고, 고순도의 EGCG만을 분리하기 위하여 10 μm packing을 사용하였다. 즉, packing size의 영향을 실험적으로 확인하여 제조용 크로마토그래피 분리에 대한 기초적인 data를 제시하였다.

결과 및 고찰

녹차에 함유되어 있는 카테킨 화합물을 추출하기 위하여 순수한 물에 대해서 조업온도, 교반속도, 침적시간을 변화하면서 추출실험을 하였다. 조업온도는 30~90°C, 교반속도는 100~700 rpm, 침적시간은 2~8시간으로 변화시켰고, 끓는물에 수침하는 추출실험도 하였다. 실험 결과에 의하면 순수한 물 50°C에서

Table 1. Amount of EGCG with operating conditions.

	Operating temperature	peak area(containing EGCG, $\mu V \cdot sec$)
Agitation rate : 300 rpm	30°C	58,139,650
	50°C	87,102,022
Dipping time : 4 hour	70°C	46,452,004
	90°C	37,277,074
Operating temperature : 50°C	Agitation rate	peak area(containing EGCG, $\mu V \cdot sec$)
	100 rpm	74,261,006
Dipping time : 4 hour	300 rpm	87,102,022
	500 rpm	77,321,113
Agitation rate : 300 rpm	700 rpm	73,092,168
	Dipping time	peak area(containing EGCG, $\mu V \cdot sec$)
Operating temperature : 50°C	2 hour	80,476,529
	4 hour	87,102,022
Agitation rate : 300 rpm	6 hour	78,430,650
	8 hour	69,869,236

**Figure 2.** Chromatogram of extract of green tea. (C_{18} prep. column, water/acetonitrile/methanol/acetic acid=862/130/15/5 vol., inj. vol.=10 μl)**Figure 3.** Chromatogram of water-phase in the partition step. (C_{18} prep. column, water/acetonitrile/methanol/acetic acid=862/130/15/5 vol., inj. vol.=10 μl)**Figure 4.** Chromatogram of ethyl acetate-phase in the partition step. (C_{18} prep. column, water/acetonitrile/methanol/acetic acid=862/130/15/5 vol., inj. vol.=10 μl)

300 rpm으로 4시간 동안 침적하였을 때 카테킨 화합물을 가장 많이 추출할 수 있었고, 그 결과를 Table 1에 나타내었다. Figure 2는 최적 추출 조건에서의 녹차추출물을 역상 액체 크로마토그래피에서 분석한 결과이다. Column은 Lichrospher 100RP-18(15 μm)을 충진하였고, 이동상의 조성은 water/acetonitrile/methanol/acetic acid, 862/130/15/5(vol.)을 이용하였다(13). Figure 2에서 보면 많은 불순물들이 포함되어 (+)C, EC, EGCG가 분리가 잘 안되고 10분~23분까지 걸쳐 혼합되어 존재하는 것을 볼 수 있다. 추출용매로서 순수한 물을 사용한 녹차로부터의 추출물 중에는 극성이 큰 많은 성분들이 포함되어 있다. 그 중에서 불필요한 성분들을 제거하고 농축시키기 위해 분배공정을 행하였다. 분배공정에서는 methylene chloride, ethyl acetate, hexane, ethyl ether, chloroform 등의 용매를 1:1 부피비로 사용하였고, 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 실험결과에 의하면 분배공정에서 ethyl acetate를 분배용매로 사용하였을 때 EGCG가 가장 많이 포함되었으나 불순물도 많이 포함되었기 때문에 Liao 등의 방법(14)과 같이 먼저 chloroform 1:1 부피비로 분배하여 불순물을 제거하고, EGCG가 포함되어 있는 water층을 ethyl acetate 1:1 부피비로 다시 분배하여 가장 좋은 결과를 얻었다. Figure 3에서 보면 water층으로는 약간의 카테킨 화합물과 불순물들이 이동되었고, Figure 4의 크로마토그램에서는 ethyl acetate층에서 불순물이 많이 제거되었고 EGCG가 이동해서 EGCG도 잘 분리되었으나, EC와 혼합되어 존재하는 것을 알 수 있다. 그러나, Figure 2와 Figure 4를 비교해 보면, 분배공정 후에 많은 불순물을 제거할 수 있었고, EGCG의 분리도 향상되었다.

분리도 R_{ij} 는 두 가지 분석물질 i, j 를 분리할 수 있는 column 능력의 정량적인 척도를 제공하여 주며, column의 분리도는 다음과 같이 정의한다.

$$R_{ij} = \frac{2(t_{R_i} - t_{R_j})}{(w_i + w_j)} \quad (1)$$

여기서 t_{R_i} 와 t_{R_j} 은 성분 i, j 의 체류시간이고, w_i, w_j 는 기준선에서 성분 i, j 의 peak의 폭을 나타냈다. 성분 j 는 나중에 용출되는 성분이다. 성분 i, j 를 완전하게 분리하는데 분리도가 1.5가 되어야 하며, 분리도가 0.75인 경우에는 분리가 되지 않는다. 1.0의 분리도의 경우 성분 j 가 약 4%의 i 를 포함하며 그 반대도 마찬가지이다. 1.5의 분리도의 경우 약 0.3% 정도 겹친다. 한 주어진 정지상이 가지는 분리도는 관이 길이를 늘이면, 즉 단의

Table 2. (+)Catechin and EGCG+EC in the partition step with solvents.

		(+)Catechin (mV · sec)	EGCG+EC (mV · sec)
methylene chloride	methylene chloride 총	×	×
	water 총	3400	18708
ethyl acetate	ethyl acetate 총	857	19429
	water 총	2192	1319
hexane	hexane 총	×	×
	water 총	3879	14311
ethyl ether	ethyl ether 총	299	3885
	water 총	4703	19385
chloroform (water 총) → ethyl acetate	chloroform 총	×	×
	water 총	3320	19269
	ethyl acetate 총	1506	19332
	water 총	2635	2512

× : not detected

수를 증가시키면 개선된다. 그러나 단이 증가하면 반대로 분리에 필요한 시간이 길어지게 된다(15).

본 연구에서는 녹차중에 카테킨 화합물이 혼합되어 존재하기 때문에 카테킨 화합물 표준시료를 혼합해서 사용하여 이동상의 조성과 시료 주입량의 변화에 따른 실험에서 최적의 EGCG 분리조건을 결정하였다. 역상 액체 크로마토그래피에서는 이동상으로 극성지수(polarity index)가 높은 물질을 사용하게 되며, 본 연구에서는 water, acetonitrile, methanol, acetic acid를 혼합하여 부피비를 변화시키면서 사용하였고, 극성지수는 각각 10.2, 5.8, 5.1이다(16). 이동상의 조성을 water/acetonitrile/ acetic acid, water/methanol/acetic acid, water/acetonitrile/ methanol/acetic acid, water/acetonitrile/methanol, 0.1% acetic acid를 포함한 water/methanol, 0.1% acetic acid를 포함한 water/acetonitrile 등으로 변화시키면서 실험을 하여 이동상의 형태와 조성이 분리도와 분리시간에 따른 영향을 Table 3에 나타내었다. 이동상의 조성으로 acetic acid를 제외한 water/ acetonitrile/methanol의 3성분계를 사용하였을 때에는 EC/EGCG의 분리도가 1보다 작았다. 따라서, Yeo 등의 방법(13)과 같이 acetic acid를 첨가한 4성분계인 water/acetonitrile/methanol/ acetic acid=862/130/20/5(vol.)를 사용하여 EC/EGCG의 분리도가 크게 향상되었다. EC/EGCG의 분리도에 크게 영향을 미치는 acetic acid의 함량을 변화시키면서 3성분계의 이동상을 사용하여 분리도를 비교하면, acetic acid는 조성에 관계없이 소량 첨가하여도 분리도가 향상되었다. Table 3에서의 실험결과 중에서 분리시간과 분리도를 고려한 최적 이동상의 조건은 0.1% acetic acid를 포함한 water/acetonitrile, 87/13%(v/v)이었고, Figure 5에서는 크로마토그램을 보여주고 있다. 카테킨 화합물은 EGC, (+)C, EC, EGCG, ECG순으로 용출되었다. 실험결과로 얻은 최적 조성을 chromatographic column(4.6 × 250 mm, 15 μm, Lichrospher 100RP-18)의 정제 공정과

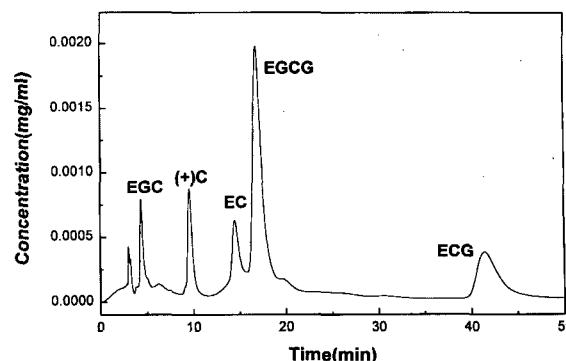


Figure 5. Analytical separation of Catechin compounds. (μ -Bondapak column, 0.1% acetic acid in water/acetonitrile=87/13 % (v/v), inj. vol.=10 μ l)

Table 3. Effect of type and composition of mobile phase on resolution.

Mobile phase(%(v/v))	Retention time (min.)		Resolution
	EC	EGCG	
water/acetonitrile/methanol=85/10/5	15.33	20.22	0.78
water/acetonitrile/methanol=85/13/2	14.40	24.83	0.47
water/acetonitrile/methanol=85/7/8	33.53	50.68	0.65
water/acetonitrile/methanol=85/8/7	27.20	48.00	0.55
water/acetonitrile/methanol/acetic acid=862/130/20/5	17.80	20.08	1.20
0.05% acetic acid in water/acetonitrile=90/10	30.69	37.99	1.59
0.05% acetic acid in water/acetonitrile=88/12	18.87	22.80	1.34
0.1% acetic acid in water/acetonitrile=90/10	27.77	33.49	1.50
0.1% acetic acid in water/acetonitrile=88/12	17.59	20.94	1.03
0.1% acetic acid in water/acetonitrile=87/13	14.50	16.83	1.24
0.2% acetic acid in water/acetonitrile=90/10	28.19	33.89	1.28
0.2% acetic acid in water/acetonitrile=88/12	18.61	22.07	1.24

μ -Bondapak column의 분리 공정에 이용하였다.

카테킨 화합물이 까다로운 임상실험을 통과하여 승인을 받기 위해서는 보다 고순도의 물질을 제조하는 것이 중요하다. 분체공정을 거친 추출물은 더욱 순도를 높이고 농축하기 위해서 Sephadex LH-20 column이나 semi-preparative HPLC를 이용하여 정제를 하는 공정이 필요하다(17, 18). Figure 6은 분체공정을 거친 시료를 semi-preparative HPLC로 EGCG를 농축하기 위해 분리도가 좋은 최적 이동상과 최적 주입량 15 μ l로 분석한 결과이다. 이러한 조건으로 EGCG가 많이 포함되어 있는 sample #1(14분~22분)을 포집하여 회전식 증발기에서 농축시켰고, Figure 7

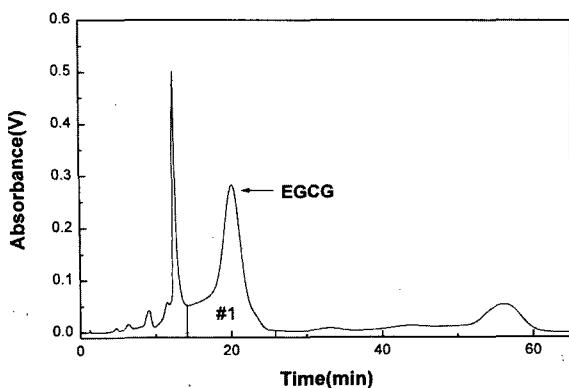


Figure 6. Preparative separation of EGCG in ethyl acetate-phase. (C_{18} prep. column, 0.1% acetic acid in water/acetonitrile=87/13 % (v/v), inj. vol.=15 μl)

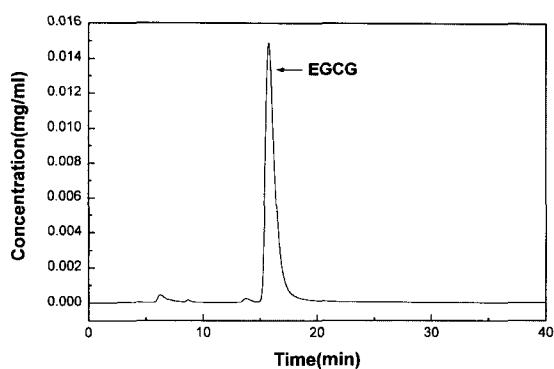


Figure 7. Isolation of EGCG from Green tea by μ -Bondapak column. (0.1% acetic acid in water/acetonitrile=87/13 % (v/v), inj. vol.=20 μl)

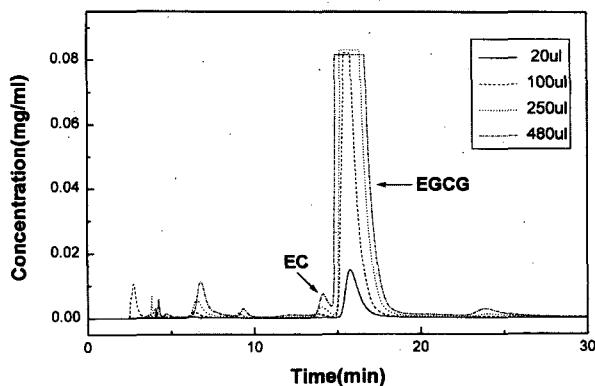


Figure 8. Increase in the injection volume of sample by μ -Bondapak column. (0.1% acetic acid in water/acetonitrile=87/13 % (v/v))

은 sample #1의 농축된 추출물을 μ -Bondapak column을 이용하여 분석용 HPLC로 최적 이동상에서 분석한 결과이다. 불순물과 다른 카테킨 화합물은 거의 모두 제거되었고, 98.80%의 순수한 EGCG만을 얻을 수 있었다.

Figure 8은 sample #1의 농축된 시료의 양을 20 μl , 100 μl , 250 μl , 480 μl 로 증가시키면서 EC와 EGCG의 분리도를 측정한 결과로, 시료량이 증가하여도 EC와 EGCG는 잘 분리됨을 알 수 있었다. 녹차로부터 목적물질인 순수한 EGCG만을 분리해 내기 위해 이러한 추출, 정제, 분리과정을 행하였고, 녹차 5 g으로부터

EGCG 121.3 mg을 얻을 수 있었다.

본 연구에서는 녹차잎을 순수한 물에 의해 추출을 하고, 추출액을 클로로포름과 에틸아세테이트로 분배하는 공정은 기존의 국내외 연구방법과 유사하지만, 녹차로부터 추출된 카테킨 화합물 중에서 경제적, 의학용으로 가장 관심을 모으고 있는 고부가 가치 물질인 EGCG만을 고순도로 분리하기 위해 역상 액체 크로마토그래피를 이용하였다. 15 μm packing의 준제조용 액체 크로마토그래피와 10 μm packing을 사용하여 두 단계로 EGCG를 정제하여 순도와 수율을 향상시켰고, particle size 영향을 고찰하여 제조용 크로마토그래피 분리에 대한 기초적인 data를 제시하였다.

결 론

본 연구를 통하여 전남 보성산 녹차에서 카테킨 화합물을 많이 추출할 수 있는 공정을 확립하였고, 15 μm 인 Lichrospher 100RP-18 충전물이 채워진 column을 이용한 semi-preparative HPLC 정제공정에서의 최적 주입량과 이동상의 조성, 포집시간을 확립할 수 있었다. 분리공정에서도 최적 이동상의 조성과 시료양의 증가에 따른 분리도의 영향을 알 수 있었고, 제조용 HPLC를 이용하기 위한 기본적인 조건을 확립할 수 있었다. 위의 모든 실험 조건에서 전남 보성산 녹차 5 g으로부터 순도 98% 이상의 EGCG 121.3 mg을 완전히 분리하여 얻을 수 있었다.

요 약

실험에 사용된 녹차는 전남 보성에서 재배된 것으로 국내시장에서 구입하였다. 녹차 5 g을 순수한 물 50°C에서 추출한 후 클로로포름과 에틸아세테이트로 분배하였다. 추출액을 크로마토그래픽 컬럼 (4.6×250 mm, 15 μm , Lichrospher 100RP-18)을 이용하여 정제하였다. 정제된 추출액으로부터 μ -Bondapak C_{18} (3.9×300 mm, 10 μm) 컬럼을 이용하여 녹차에 포함된 카테킨 화합물을 분리하였으며, EGC(Epigallocatechin), C(Catechin), EC (Epicatechin), EGCG(Epigallocatechin Gallate), ECG(Epicatechin Gallate)의 순으로 용출되었다. 본 연구의 결과로서는 목적물질인 EGCG를 분리하기 위해 이동상의 조성은 0.1%의 아세트산이 포함된 물/아세토나이트릴, 87/13 % (v/v)이었다. 유량은 1.0 ml/min, UV 검지기는 280 nm로 고정하였다. 위의 실험조건에서 5 g의 전남 보성산 녹차로부터 순도 98% 이상의 121.3 mg EGCG를 얻을 수 있었다.

감 사

본 연구는 과학재단 핵심전문연구(과제번호 : 981-1102-006-2)와 인하대학교 연구비(1999)의 지원에 의하여 고순도 분리 연구실에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Choi, S. H., S. H. Kim, and B. H. Lee (1993), Effect of Green Tea on the Anti-Duodenal Ulcer in Cysteamine-Administered Rats, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 374-380.

2. Yamane, T., N. Hagiwara, M. Tateichi, S. Akachi, M. Kim, J. Okuzumi, Y. Kitao, M. Inagake, K. Kuwata, and T. Takahashi (1991), Inhibition of azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats by green tea polyphenol fraction, *Jpn. J. Cancer Res.*, **82**, 1336-1339.
3. Santosh, K., A. Rajesh, E. Susan, S. W. Gary, and M. Hasan (1993), Protection against 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-caused inflammation in SENCAR mouse ear skin by polyphenolic fraction isolated from green tea, *Carcinogenesis*, **14**, 361.
4. Oguni, I., S. J. Chen, P. Z. Lin, and Y. Hara (1992), *Prev. Med.*, **21**, 332.
5. Valcic, S., B. N. Timmermann, D. S. Alberts, G. A. Wächter, M. Krutzsch, J. Wymer, and J. M. Guillen (1996), Inhibitory effect of six green tea catechins and caffeine on the growth of four selected human tumor cell lines, *Anti-Cancer Drugs*, **7**, 461-468.
6. 松崎妙子 and 原 征彦 (1985), 茶葉カテキン類の硫酸化作用について, 日本農芸化學會誌, **59**(2), p129.
7. Ahmad, N., DK. Feyes, AL. Nieminen, R. Agarwal, and H. Mukhtar (1997), Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells, *Journal of the National Cancer Institute*, **89** (24), 1881-1886.
8. Goto, T., Y. Yoshida, M. Kiso, and H. Nagashima (1996), Simultaneous analysis of individual catechins and caffeine in green tea, *Journal of Chromatography A*, **749**, 295-299.
9. Okushio, K., N. Matsumoto, T. Kohri, M. Suzuki, F. Nanjo, and Y. Hara (1996), Absorption of Tea Catechins into Rat Portal Vein, *Biol. Pharm. Bull.*, **19**(2), 326-329.
10. Bronner, W. E. and G. R. Beecher (1998), Method for determining the content of catechins in tea infusions by high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, **805**, 137-142.
11. Lee, J. H., Y. M. Lee, and D. C. Moon (1992), Rapid Separation and Identification Method of Tea Catechins, *Journal of the Korean Society of Analytical Sciences*, **5**(3), 333-338.
12. Kim, M. J. and S. J. Rhee (1994), Effect of Korean Green Tea, Oolong Tea and Black Tea Beverage on the Removal of Cadmium in Rat, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**(5), 784-791.
13. Yeo, S. G., I. S. Kim, C. W. Ahn, S. B. Kim, and Y. H. Park (1995), Desmutagenicity of Tea Extracts from Green Tea, Oolong Tea and Black Tea, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24** (1), 160-168.
14. Liao, S. and R. A. Hiipakka (1995), SELECTIVE INHIBITION OF STEROID 5 α -REDUCTASE ISOZYMES BY TEA EPICATECHIN-3-GALLATE AND EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE, *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS*, **214**(3), 833-838.
15. Chang, K. K., K. H. Row, and S. T. Chung (1997), Separation of Taxol from Taxanes by NP-HPLC, *J. of Korean Ind. & Eng. Chemistry*, **8**(2), 286-291.
16. Burick and Jackson Laboratories, Inc. (1984), High Purity Solvent Guide, p.133.
17. Cho, Y. J., S. S. Chun, and C. Choi (1993), Inhibitory Effect of Condensed Tannins Isolated from Korean Green Tea against Xanthine Oxidase, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**(4), 418-422.
18. Chung, S. T., K. H. Row, J. H. Kang, and Y. K. Park (1998), pending to Korean Patent, No. 42877.