

## 제주산 식물을 이용한 Tyrosinase 억제 활성, Hyaluronidase 억제 활성, 라디칼 소거 활성 검색

이남호\* · 이선주 · 정덕상 · 부희정 · 양홍철 · 류기중<sup>1</sup>

제주대학교 화학과, <sup>1</sup>제주대학교 원예생명과학부

### Screening of the Tyrosinase Inhibition and Hyaluronidase Inhibition Activities, and Radical Scavenging Effects Using Plants in Cheju

Nam Ho Lee\*, Sun-Joo Lee, Deok-Sang Jung, Hee-Jeong Bu,  
Hong Chul Yang and Key-Zung Riu<sup>1</sup>

Department of Chemistry, <sup>1</sup>Faculty of Horticultural Life Science,  
Cheju National University, Ara-1, Cheju 690-756, Korea

**Abstract** – Solvent extracts of 17 plants collected in Cheju Island were investigated for their biological properties related to cosmeceuticals such as tyrosinase and hyaluronidase inhibition and also radical scavenging effects. The chloroform fraction of *Phytolacca esculenta* root exhibited strong inhibition against tyrosinase activity. No fraction showed significant hyaluronidase inhibition. Some solvent extracts of plants such as *Achyranthes japonica* and *Artemisia princeps* showed considerable radical scavenging activities.

**Key words** – tyrosinase inhibition, hyaluronidase inhibition, radical scavenging effects.

현재 화장품(cosmetics) 산업에는 약품(pharmaceuticals)의 기능이 첨가된 기능성화장품 혹은 약용화장품(cosmeceuticals)의 개념이 도입되어<sup>1)</sup> 세계적으로 폭 넓게 이용되고 있다. 새로운 기능성화장품의 개발에는 원하는 활성을 보유한 원료물질의 개발이 우선되어야 한다. 관심의 대상이 되는 친피부적인 효과로 미백효과, 항염증효과 및 항산화효과 등이 있다. 이러한 효과를 보유한 물질을 천연 소재에서 찾으려는 연구가 활발하며, 특히 다양한 식물들이 연구 대상으로 검색되고 있다. 식물들은 서식 환경에 따라 상이한 활성을 보유하고 있음은 잘 알려진 일이다. 제주도는 국내에서 독특하게 아열대 기후를 형성하고 있으며, 한라산을 중심으로 다양하고 특이한 식물 생태분포를 형

성하고 있다.<sup>2)</sup> 본 연구실에서는 이러한 제주 자생식물을 이용한 활성·분리 연구를 지속적으로 수행하고 있다.<sup>3)</sup>

본 연구의 목적은 제주도 자생 식물체들의 친피부적 성질을 조사하여 유효성분 탐색 및 기능성 화장품 등의 원료물질 개발을 위한 기초자료를 확보하는 데에 있다. 이를 위하여 미백효과와 관련된 tyrosinase 저해 활성 및 항염증효과의 hyaluronidase 저해 활성, 그리고 항산화효과의 라디칼 저해활성을 조사하였다. 사용된 식물체들은 제주도에서 직접 채취하여 시료를 제조하였다.

현재 미백제로서 멜라닌 생성 억제에 이용되고 있는 ascorbic acid 및 유도체, kojic acid, arbutin 등은 모두 tyrosinase 저해제로 알려져 있다. Tyrosine은 효소인 tyrosinase에 의하여 멜라닌 생성의 전구체가

\*교신저자 : Fax : 064-756-3561

되는 DOPA와 dopaquinone으로 대사된다. 따라서 tyrosinase의 억제제는 피부의 멜라닌 색소의 조절을 통하여 피부 미백 효과를 기대할 수 있다. 최근 천연물 유래 미백제와 관련된 성분으로는 ellagic acid,<sup>4)</sup> 3,5-dicaffeoylquinic acid,<sup>5)</sup> oxyresveratrol, kanizol F, glarbridin 등이 있다.<sup>6)</sup> 본 연구에서도 미백효과를 염두에 두어, 식물체 추출물의 tyrosinase 억제 활성<sup>7)</sup>을 조사하였다.

Hyaluronic acid는 glucuronic acid와 glucosamine이 반복해서 연결된 고분자 다당류이다. hyaluronic acid는 염증 반응에 관여하여 상처 치유 및 조절에 중요한 역할을 하고 있다. 고분자 hyaluronic acid는 염증 형성의 중요 요소인 macrophage의 phagocytic ability를 저해한다. 반면, hyaluronic acid 분해산물 혹은 저분자 hyaluronic acid는 상처 치유 과정에서 inflammation, fibrosis, collagen deposition을 증가시킨다. 저분자 hyaluronic acid는 류마티스 관절염 등의 염증 환자에게서 특히 높은 농도로 관찰되고 있다.<sup>8)</sup> Hyaluronidase는 고분자 hyaluronic acid의 분해효소인데, 이 효소의 저해는 항염증 효과를 기대할 수 있다. 항염증 작용이 있는 천연물로 화장품에 이용되는 것으로는 phenol성 물질, alkaloid, terpenoid 등이 알려져 있다.<sup>9)</sup> 본 연구에서는 항염증작용이 있는 물질을 검색하는 방법으로 hyaluronidase 저해효과를 조사하였다.<sup>10)</sup>

피부는 항상 산소와 접촉하고 있고, 자외선에 크게 노출되어 있다. 따라서, 활성산소종에 의한 피부의 광산화적 손상 위험이 항상 존재한다. 산소는 대사 과정 중에 일부는 superoxide radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hydroxy radical(HO<sup>·</sup>), singlet oxygen(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)과 같은 활성 유해산소로 변환된다. 피부노화의 원인 중의 하나는 이러한 유해산소 등에 의한 피부 세포의 산화라고 여겨지고 있다. 따라서, 라디칼 소거활성을 갖는 물질은 항산화활성을 나타내고, 궁극적으로 피부노화 방지효과를 기대할 수 있다. Flavonoid를 포함하는 많은 페놀성 물질이 라디칼 소거활성을 나타내며, 화장품 첨가제로 자주 이용되고 있다.<sup>11)</sup> 본 연구에서는 식물 시료의 항산화활성을 DPPH법<sup>12)</sup>을 이용한 라디칼 소거활성을 통하여 조사하여 보았다.

## 재료 및 방법

**시료** - 실험에 사용된 모든 시료는 1999년 3월부터

2000년 8월 사이에 제주도에서 직접 채취하여 제주대학교 생물학과 식물분류학 실험실에서 동정하였다. 채취 후 세척하고 통풍이 잘 되는 그늘진 곳에서 건조하였다. 건조 시료는 잘게 파쇄하여 사용 전까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

**시료 추출물의 제조** - 건조 시료 1 kg을 메탄올 2 L에 넣고 1주일간 암냉소에 보관하였다. 용액은 여과하여 잔사를 제거하고 회전증발기로 감압하에서 용매를 증발 농축하여 메탄올 추출물(MeOH extract)을 얻었다. 이 농축액에 적당량(농축액 무게 대비 2배 정도)의 EtOAc를 가하여 추출한 후 잔사를 제거하고 유기용매층을 농축하였다(EtOAc 분획). 이어서 동일한 방법으로 CHCl<sub>3</sub>을 가하여 유기용매층을 추출 농축하였다(CHCl<sub>3</sub> 분획). 남아 있는 잔사층에 methanol을 가하여 가용부분을 취하였다(Residue 분획).

**Tyrosinase 억제 활성** - Tyrosinase 억제효과는 dopachrome 방법을 이용하여 UV/Vis 분광광도계로 측정하였다.<sup>7)</sup> 50 μl의 메탄올 용액 혹은 각 층의 시료(1.0 mg/mL) 용액을 100 unit/mL mushroom tyrosinase (Sigma Chemical Co.), 0.1 M potassium phosphate buffer에 섞은 후 10분간 37°C의 수조에서 배양하였다. 여기에 200 mM의 L-tyrosine(10 μl)을 첨가해 섞고 10분간 37°C에서 배양한 후 475 nm에서 흡광도를 측정하여 배양 전의 흡광도의 차이로 억제되는 정도를 살폈다. Tyrosinase 억제 정도는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition(\%)} = \frac{[(D - C) - (B - A)]}{(D - C)} \times 100$$

A와 B는 각각 시료를 가지는 용액의 배양 전과 후의 흡광도이며, C와 D는 각각 시료를 넣지 않은 용액(기준 용액)의 배양 전과 후의 흡광도이다. 흡광도의 측정에는 Hewlett-Packard 8453 분광광도계를 이용하였다.

**Hyaluronidase 억제 활성** - Hyaluronidase 억제효과는 Rooster Comb에서 형성된 N-acetylglucosamine의 양을 분광광도계로 측정함으로써 결정하였다.<sup>10)</sup> 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 hyaluronidase (7,900 unit/mL) 50 μl를 20 μl의 추출 시료 용액(5 mg/mL)과 함께 혼합시킨 후 37°C water bath에서 20분간 배양시켰다. 대조군은 추출물 대신에 메탄올을 넣고 37°C 수조에서 20분간 배양하였다. 이때 hyalu-

ronidase의 활성화를 위해 12.5 mM의  $\text{CaCl}_2$  100  $\mu\text{l}$ 를 함께 첨가하여 배양하였다.  $\text{Ca}^{2+}$ 으로 활성화된 hyaluronidase 용액에 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 hyaluronic acid (12 mg/5 mL) 250  $\mu\text{l}$ 를 첨가하여 다시 수조에서 40분간 배양시켰다. 그 후 0.4 N sodium hydroxide 100  $\mu\text{l}$ 와 0.4 M potassium tetraborate 100  $\mu\text{l}$ 를 반응 혼합물에 첨가하여 끓는 water bath에서 3분간 배양시킨 후 냉각시켰다. 냉각시킨 반응물에 dimethyl aminobenzaldehyde 용액(p-dimethyl aminobenzaldehyde 4 g, 100% acetic acid 350 mL 및 10 N hydrochloric acid 50 mL 혼합액) 3 mL를 반응 혼합물에 첨가한 후 37°C 수조에서 20분간 배양한 후 분광광도계를 이용하여 585 nm에서 흡광도를 측정하였다. 저해 비율 계산은 다음과 같이 하였다.

$$\text{Hyaluronidase Inhibition}(\%) = \frac{[(\text{OD}_c - \text{OD}_s) / \text{OD}_c] \times 100}{}$$

여기서  $\text{OD}_c$ (optical density)는 대조군의 585 nm에서의 OD이고  $\text{OD}_s$ 는 시료 용액의 585 nm에서의 OD이다.

**라디칼 소거 활성** - 황산화활성 검사는 DPPH법을 이용하여 시료의 radical 소거효과를 측정하는 Blois법

을 활용하였다.<sup>12)</sup> 0.2 mM DPPH(Aldrich) 메탄올 용액 0.5 mL에 여러 농도의 시료 메탄올 용액 1 mL를 첨가하고 섞은 다음 실온에서 10분간 방치 후 517 nm에서 흡광도의 감소를 측정하였다. 시료의 환원력의 크기는 라디칼 소거활성(scavenging activity,  $\text{SC}_{50}$ )으로 표시하며  $\text{SC}_{50}$ 은 DPPH의 농도가 50% 감소하는데 필요한 시료의 농도로 나타낸다.

## 결과 및 고찰

**Tyrosinase 억제 활성 검색** - 사용된 식물 시료들의 미백효과 성분의 함유 여부를 관찰하기 위하여 tyrosinase 저해 활성을 조사하여 보았다. Tyrosinase 저해 효과는 시료를 첨가하지 않은 대조군과, 시료가 들어있는 반응액의 흡광도 차이를 100분율을 이용하여 표현되며 수치가 높을수록 저해활성이 우수한 경우이다. 본 실험에서는 메탄올 추출물을 용매 분획화하여 EtOAc 분획,  $\text{CHCl}_3$  분획 및 residue 분획을 얻고 각각의 활성을 측정하였다. 각 분획은 각각 세 차례의 활성 억제 실험을 통하여 평균값을 구하였고, 그 결과는 Table 1에 요약하였다.

Table 1에서 보면, 분획에 따른 뚜렷한 활성 변화는 보이지 않는다. 사용 시료들의 활성도 대부분이 큰

**Table 1.** Screening of tyrosinase inhibition on the solvent fractions of plants. Data shown in the table are inhibition percent values

Plants	Inhibition (%)		
	EtOAc fraction	$\text{CHCl}_3$ fraction	Residue fraction
고사리( <i>Pteridium aquilinum</i> )	4.73	0.66	5.78
녹나무( <i>Cinnamomum camphora</i> )	3.39	1.45	0.22
닭의장풀( <i>Commelina communis</i> )	-1.91	4.27	1.39
돌 외( <i>Gynostemma pentaphyllum</i> )	-0.83	9.47	5.84
번행초( <i>Tetragonia tetragonoides</i> )	1.92	5.57	4.25
비 파( <i>Eriobotrya japonica</i> )	7.04	8.42	6.5
산박하( <i>Isodon inflexus</i> )	1.75	4.91	2.46
쇠무릎( <i>Achyranthes japonica</i> )	-1.45	6.23	0.54
싸 리( <i>Lespedeza bicolor</i> )	3.17	1.88	4.07
쑥( <i>Artemisia princeps</i> )	-2.55	-0.24	1.94
으 림( <i>Akebia quinata</i> )	2.89	2.35	-0.54
자리공열매·잎( <i>Phytolacca esculenta</i> )	-2.88	-1.64	3.51
자리공뿌리( <i>Phytolacca esculenta</i> )	14.47	98.2	13.91
쭈 백( <i>Thuja orientalis</i> )	4.58	4.41	5.06
치 자( <i>Gardenia jasminoides</i> )	0.34	4.25	-0.49
키 위( <i>Actinidia deliciosa</i> )	5.26	3.24	2.28
환삼덩굴( <i>Humulus japonicus</i> )	-1.32	6.55	-0.64

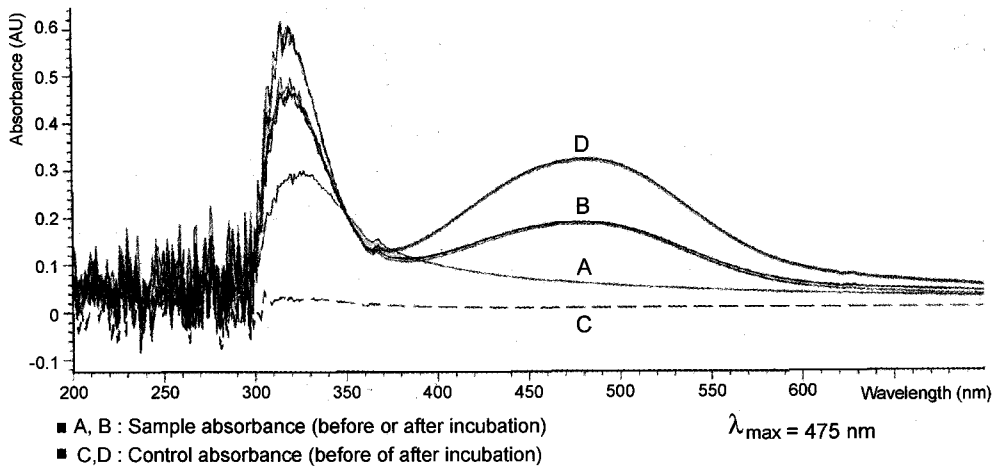


Fig. 1. UV spectra from tyrosinase inhibition assay of the chloroform extract of *Phytolacca esculenta* roots (15  $\mu\text{g/ml}$ ).

효과가 보이지 않고 있으나, 자리공(*Phytolacca esculenta*) 뿌리의 chloroform 층에서는 tyrosinase 활성 억제제가 크게 나타나고 있다. 이 시료의 UV/Vis 스펙트럼의 모양을 Fig. 1에 나타내었다. 따라서 자리공 뿌리의 chloroform 층의  $\text{IC}_{50}$  값을 구하기 위하여 시료 농도에 따른 저해효과를 측정하였다. 그 결과  $\text{IC}_{50}$  값이 15  $\mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다. 이는 기존 대표적인 tyrosinase 저해제인 kojic acid( $\text{IC}_{50}$ : 37  $\mu\text{g/ml}$ )와 비교하여 보면 자리공 뿌리는 활성이 매우 우수함을 알 수 있다. 따라서 자리공 뿌리의 chloroform층에서 활성 성분을 추적하기 위하여 클로로포름 층을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(이동상  $\text{MeOH}:\text{CHCl}_3 = 1:3$ )를 통하여 분획하였다. 결과로 얻은 8개의 분획 중에서 극성이 낮은 분획 2, 3에서 활성이 높게 나타남을 확인하였다. 이 활성 성분의 순수 분리 정제 작업은 현재 진행 중에 있다. 한편 자리공을 대상으로 한 성분 연구 결과는 많지 않으며, terpenoid saponin 등이 알려져 있다.<sup>13)</sup>

**Hyaluronidase 억제 활성** - 사용된 식물 시료들의 항염효과 여부를 확인하기 위하여 hyaluronidase 저해 활성을 조사하여 보았다. Hyaluronidase 저해 효과도 시료를 첨가하지 않은 대조군과, 시료가 들어있는 반응액의 흡광도 차이를 100분율로 나타내며 수치가 높을수록 저해활성이 우수한 경우이다. 본 실험에서도 tyrosinase 억제활성 실험과 마찬가지로 메탄올 추출물을 용매 분획화하여 EtOAc 분획,  $\text{CHCl}_3$  분획 및 residue 분획을 얻고 각각의 활성을 측정하였다. 각 분획은 각각 세 차례의 활성 억제 실험을 통하여 평균

값을 구하였고, 그 결과는 Table 2에 요약하였다. 일반적으로 뚜렷한 활성을 보이는 시료는 없었다. 미약하나마 자리공 뿌리의 ethyl acetate 분획 및 닭의장풀 chloroform 분획에서 10% 이상의 저해활성이 나타남을 관찰할 수 있었다.

**라디칼 소거 활성** - 본 실험에 사용된 DPPH는 안정한 형태로 존재하는 라디칼 화합물로서, 시료에 의하여 라디칼이 제거되면 UV 분광기에서 518 nm의 흡수파장이 사라지게 된다. 생체내 산화물질로 작용하는 활성 산소 등은 대표적 라디칼 물질로서, 라디칼 소거 활성물질은 항산화제로 인식되고 있다. 실험에 사용된 시료의 methanol 추출물들의 항산화효과를 DPPH 용액을 이용하여 측정하였다. 비교적 활성이 우수한 시료의 결과는 Table 3에  $\text{SC}_{50}$  값으로 계산하여 요약하였다. 실험 결과 녹나무, 비파, 쇠무릎, 찌리 등에서 항산화효과가 우수하게 나타남을 확인하였다.  $\text{SC}_{50}(\mu\text{g/ml})$ 의 값이 각각 33, 30, 25, 27로서 대조군으로 이용되는 BHT( $\text{SC}_{50}$ : 50  $\mu\text{g/ml}$ ) 및 ascorbic acid( $\text{SC}_{50}$ : 22  $\mu\text{g/ml}$ )와 유사한 활성을 나타내고 있다. 이러한 메탄올 추출물을 비교적 비극성인 ethyl acetate 및 chloroform으로 분획하여 라디칼 저해 활성을 조사하여 본 결과, 활성이 감소함을 발견하였다. 따라서, 항산화 작용을 하는 물질은 EtOAc 및  $\text{CHCl}_3$ 에 난용성인 극성이 높은 물질들로 관측된다.

## 결 론

화장품 원료로서 유용한 식물자원을 개발하기 위하

**Table 2.** Screening of hyaluronidase inhibition activities of the solvent fractions obtained from plants. Data shown in the table are inhibition percent values

Plants	Inhibition (%)		
	EtOAc fraction	CHCl <sub>3</sub> fraction	Residue fraction
고사리( <i>Pteridium aquilinum</i> )	2.92	3.24	5.92
녹나무( <i>Cinnamomum camphora</i> )	-6.60	6.51	8.68
닭의장풀( <i>Commelina communis</i> )	4.48	10.95	1.14
돌 외( <i>Gynostemma pentaphyllum</i> )	1.61	-5.47	12.08
변행초( <i>Tetragonia tetragonaides</i> )	0	-0.97	0.06
비 파( <i>Eriobotrya japonica</i> )	6.39	1.23	-1.03
산박하( <i>Isodon inflexus</i> )	-10.56	1.18	-0.49
쇠무릎( <i>Achyranthes japonica</i> )	6.61	7.22	1.36
싸 리( <i>Lespedeza bicolor</i> )	7.35	3.34	-0.90
쑥( <i>Artemisia princeps</i> )	3.66	-7.63	-1.04
으 림( <i>Akebia quinata</i> )	-1.23	8.93	-0.99
자리공열매 · 잎( <i>Phytolacca esculenta</i> )	1.91	-10.62	-2.58
자리공뿌리( <i>Phytolacca esculenta</i> )	11.56	8.79	1.26
쭈 백( <i>Thuja orientalis</i> )	-13.95	-1.96	-1.38
치 자( <i>Gardeniajasminoides</i> )	2.36	6.85	1.36
키 위( <i>Actinidia deliciosa</i> )	7.8	-3.25	-2.29
환삼덩굴( <i>Humulus japonicus</i> )	3.82	-4.85	-2.70

**Table 3.** The free radical scavenging effects of methanol extracts of plants. Data shown in the table are SC<sub>50</sub> values compared to standard samples

Plants	SC <sub>50</sub> (μg/ml)
녹나무( <i>Cinnamomum camphora</i> )	33
비파( <i>Eriobotrya japonica</i> )	30
산박하( <i>Isodon inflexus</i> )	215
쇠무릎( <i>Achyranthes japonica</i> )	25
싸리( <i>Lespedeza bicolor</i> )	30
쑥( <i>Artemisia princeps</i> )	27
으림( <i>Akebia quinata</i> )	70
자리공열매 · 잎( <i>Phytolacca esculenta</i> )	200
쭈백( <i>Thuja orientalis</i> )	170
Butylated hydroxytoluene	50
Ascorbic acid	22

여 제주도 자생식물체를 채집하여 메탄올 추출물을 제조하였다. 이 추출물을 다시 EtOAc 및 CHCl<sub>3</sub> 가용 분획, 그리고 잔사(residue) 층으로 분획하여 활성검색의 시료로 사용하였다. 검색 방법으로 tyrosinase 억제 활성, hyaluronidase 억제 활성, 그리고 라디칼 소거 활성을 이용하였다. 이 활성들은 피부의 미백효과, 항염효과, 항산화효과와 관련이 있다.

Tyrosinase 억제활성은 dopachrome법을 이용하여 UV/Vis spectrophotometry로 측정하였다. 실험에 이용된 추출물 중에서 자리공 뿌리의 chloroform 분획에서 우수한 활성이 나타났다(IC<sub>50</sub>: 15 μg/ml). 이는 기존 미백제로 이용되고 있는 kojic acid(IC<sub>50</sub>: 37 μg/ml)와 비교하여 우수한 활성을 보이고 있다. 분획 실험 결과 활성물질은 chloroform 층에서 비교적 비극성인 물질로 관측되었으며, 추가적인 연구가 요구되고 있다.

Hyaluronidase 억제 활성의 경우, 사용 시료 중에서 뚜렷하게 우수한 활성을 발견할 수 없었다. 미약하나마 자리공 뿌리의 ethyl acetate 분획 및 닭의장풀 chloroform 분획에서 10% 이상의 저해활성이 나타남을 관찰할 수 있었다.

실험에 사용된 시료의 methanol 추출물들의 항산화 효과를 DPPH 용액을 이용하여 측정하였다. 실험 결과 녹나무, 비파, 쇠무릎, 싸리 등에서 항산화효과가 우수하게 나타남을 확인하였다. 이 시료들은 대조군으로 이용되는 BHT 및 ascorbic acid와 유사한 활성을 나타내고 있다. 용매분획 실험 결과, 항산화작용을 나타내는 물질은 EtOAc 및 CHCl<sub>3</sub>에 난용성인 극성이 높은 물질들로 추정된다.

이상의 연구 결과를 보면, 제주 자생 식물을 이용한 몇 가지 시료에서 친피부적인 효과를 발견할 수 있었다. 따라서 본 연구 결과는 화장품 첨가제 등 관련 분야에의 활용 및 유효 성분의 분리·동정의 기초 자료로서 이용되리라 생각한다.

## 사 사

본 논문은 한국과학재단이 지원하는 제주대학교 아열대원예산업연구센터 학술연구비에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다. 또한, 1998년 제주대학교 발전기금연구비의 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 저자(이선주)는 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Kligman, A. M. (1993) Why cosmeceuticals? A dermatologic view. *Cosmetics & Toiletries* 108: 37-38.
2. 김문홍 (1992) 제주식물도감. 제주도인쇄협동조합. 제주.
3. Lee, N. H., Yoon, J-S., Lee, B. H., Choi, B. W. and Park, K. H. (2000) Screening of the radical scavenging effects, tyrosinase inhibition and anti-allergic activities using *Opuntia ficus-indica*. *Kor. J. Pharmacogn.* 31: 412-415.
4. Tachibana, S. and Tanaka, Y. (1997) Inhibitory effect of ellagic acid on melanogenesis. *Fragrance Journal* 25: 37-42.
5. Shimoto, H. (1997) Regulation of melanogenesis with foodstuffs, *Fragrance Journal* 25: 63-68.
6. 이현호 (1997) 최근 미백화장품의 개발 동향, *대한화장품학회지* 23: 43-56.
7. Hearing Jr., V. J. (1987) Mammalian monophenol monooxygenase (Tyrosinase): Purification, properties, and reaction catalyzed. *Methods in Enzymology* 142: 154-165.
8. Ghosh, P. (1994) The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluids. *Clin. Exp. Rheumatol.* 12: 85-82.
9. Takeya, K. (1995) Antimicrobial and anti-inflammatory activities of crude drugs. *Fragrance Journal* 8: 56-64.
10. Lee, J. S., Jeong, S-H., Ko, K-I., Kim, K. H., Chong, C.-K. and Park, S. N. (1999) The effects of *Alpinia katsumadai* extract on anti-inflammation and melanogenesis. *대한화장품학회지* 25: 69-88.
11. 박수남 (1997) 피부노화와 항산화제. *대한화장품학회지* 23: 75-132.
12. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
13. Yi, Y. H. (1992) A triperpenoid saponin from *Phytolacca esculenta*. *Phytochemistry* 31: 2552-2554, and references cited therein.

(2001년 5월 9일 접수)