

연꽃수술추출물이 과산화수소로 손상된 배양 인체피부흑색종세포에 대한 항산화효과 및 멜라닌화에 미치는 영향

김명섭¹, 박윤점², 손영우^{3*}

¹원광대학교 환경보건학과, ²원광대학교 원예·동식물학부, ³원광대학교 산본병원

Antioxidative Effect and Melanogenesis of *Nelumbo nucifera* Stamen Extract on Cultured Human Skin Melanoma Cells Injured by Hydrogen Peroxide

Myoung Seoup Kim¹, Yun Jum Park² and Young Woo Sohn^{3*}

¹Department of Environmental Health Science, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

²Division of Horticulture and Animal-Plant Science, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

³Sanbon Medical Center, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

Abstract - To examine the antioxidative effect and melanogenesis of *Nelumbo nucifera* stamen (NNS) extract on hydrogen peroxide H₂O₂ induced cytotoxicity in cultured human skin melanoma cells (SK-MEL-3), cell adhesion activity (CAA), tyrosinase inhibitory activity and total amount of melanin synthesis were measured by colorimetric assay. In this study, H₂O₂ significantly decreased CAA, and CAA₅₀ value of H₂O₂ was determined at 30 μM. In the antioxidative effect, NNS extract increased cell adhesion activity which was decreased by H₂O₂ induced cytotoxicity, and also, tyrosinase activity and total amount of melanin were decreased by NNS extract. These results suggested that H₂O₂ was highly toxic on cultured human skin melanoma cells and NNS extract showed the antioxidative and inhibitory effect of melanogenesis by the increased CAA, and the decreased tyrosinase activity and total amount of melanin synthesis.

Key words - Tyrosinase activity, Cell adhesion activity, Cytotoxicity, Colorimetric assay, Inhibitory effect, Plant extract

서 언

멜라닌색소는 피부색은 물론이고 모발, 털색깔과 매우 관련이 깊으며, 또한 기미나 잡티, 홍반 및 피부암의 유발에도 밀접히 관여되어 있다(Kuwata et al., 1993). 멜라닌의 형성요인에는 melanocyte stimulating hormone(MSH), 영양부족, cytokine과 같은 내적요인과 자외선이나 살균제와 같은 화학제, 곰팡이 및 세균 등이 알려져 있다(Kang et al., 2007).

이 중 자외선은 피부에 노출될 경우 피부손상은 물론 광노화를 유발한다고 알려져 있다(Dimri et al., 1996). 자외선에 의한 광노화기전의 하나로는 활성산소(reactive oxy-

gen species, ROS)설로서, 피부접촉시 자외선은 다량의 ROS를 형성하여 피부세포의 손상은 물론 나아가서 피부의 퇴화나 사멸을 초래하게 된다는 것이다(Leonard et al., 2000). 더욱이 ROS는 멜라닌세포의 활성화뿐만 아니라 인체내의 항산화효소인 superoxide dismutase(SOD) 및 catalase 등과 같은 효소활성의 저해를 통하여 산화적 손상을 유발한다고 한다(Hah et al., 2005). 이같이 유발된 산화적 손상은 막의 지질과산화반응(lipid peroxidation)에 의한 막손상을 비롯하여 N-methyl-D-aspartate(NMDA) 수용체의 과활성이나 세포내 칼슘유입 등을 통하여 세포손상을 유도한다(Park et al., 1996; Hah et al., 2005). 한편, ROS에 의한 멜라닌세포의 활성화는 tyrosinase의 활성화와 밀접한 관련이 있으며, tyrosinase의 활성화는 또한 MSH에 의해 촉진되어 진다(Hosoi et al., 1985; Kang et al., 2007).

*교신저자(E-mail) : giyoung@wonkwang.ac.kr

이처럼 ROS와 멜라닌합성과의 상호관련이 제시되면서 멜라닌의 과형성에 의해 유발되는 죽은개나 기미, 또는 자반과 같은 색소침착 등에 대한 예방이나 또는 치료적 접근을 ROS의 산화적 손상과 관련하여 항산화 측면에서 연구하려는 시도가 관심을 끌게 되었다(Kuwata et al., 1993).

최근, 각종 식물의 꽃이나 열매, 줄기 뿌리 및 씨 등에서 항산화효과가 뛰어난 성분들이 다량 함유되어 있다고 밝혀지면서 이에 대한 연구가 활발히 진행중이다(Park et al., 2001; Gates et al., 2007). 이들 추출물들은 DPPH 라디칼 소거능이나 SOD 유사활성과 같은 효과를 나타냄으로써 항산화능이 있음이 밝혀지고 있다(Hah et al., 2005). 지금까지 추출된 천연추출성분에는 페놀화합물을 비롯한 탄닌, 카로티노이드, 플라보노이드 등이 있으며, 특히 gallic acid와 같은 페놀화합물은 한 개 이상의 수산기(OH)를 가지고 있어 항산화를 비롯한 항염, 항암 등과 같은 각종 질환에 유효한 약리활성을 나타낸다고 알려져 있다(Kang et al., 2007). 이같은 추출물들의 성분은 식물별 추출부위는 물론 추출용매에 따라 성분의 약리활성이 각각 다르다고 알려져 있다(Lee et al., 1997; Lee et al., 2006). 한편, 수련과(Nymphaeaceae)에 속하는 연꽃(*Nelumbo nucifera* GAERTN, NNG)은 7-8 월경에 희거나 연분홍색의 꽃이 개화하는데 꽃을 비롯한 씨, 뿌리 등은 오래전부터 강심, 수렴, 지사, 불면증 등의 치료에 처방되었다(Peng et al., 1998; Park et al., 2001). 최근에는 연꽃수술(*Nelumbo nucifera* stamen, NNS)의 추출물성분중에 플라보노이드계통인 kaempferol 성분이 들어있어 항산화나 항암작용이 뛰어나다고 보고된 바 있다(Lee et al., 2006). 그러나 아직까지 연꽃은 물론 연꽃수술에 대한 항산화에 관한 연구는 그리 많이 되어 있지 않다.

본 연구에서는 활성산소의 산화적 손상에 대한 ethyl acetate의 연꽃수술추출물 영향을 조사하기 위하여 활성산소의 일종인 과산화수소(hydrogen peroxide, H₂O₂)를 처리한 배양 인체피부흑색종세포에서 세포부착율(cell adhesion activity, CAA)에 의한 연꽃추출물의 항산화작용을 비롯하여 tyrosinase활성저해능 및 총멜라닌합성량을 측정하여 멜라닌화에 대한 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

시약 및 세포배양

본 실험에서 사용한 과산화수소(hydrogen peroxide, H₂O₂)를 비롯한 XTT(2,3-bis-[2-methoxy-4nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-caboxanilide, disodium salt 및 phosphate buffered saline(PBS)은 Sigma사(St Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, H₂O₂는 혈청이 포함되지 않은 minimum essential medium(MEM, Gibco)으로, XTT tetrazolium은 PBS로 각각 1 mM 및 50 ug/ml의 저장액을 만든 후 실험 당일 본 실험에 사용하였다. 인체피부흑색종세포(SK-MEK-3)의 배양은 Peng 등(1998)의 방법에 따라 trypsin으로 세포를 분리후 10% fetal bovine serum(FBS, Sigma)이 함유된 MEM 배양액에 넣어 36°C, 5%CO₂/95%O₂로 조절된 항온기내에서 배양하였다.

추출물의 조제

본 실험에 사용한 연꽃은 2008년 원광대학교 식물원내 약초재배시험장에서 재배중인 백련을 한의과대학 본초학 교실에서 식물학적 검정을 거친 후 사용하였다. 연꽃에서 채취한 수술 21.6 g을 3 배량의 ethyl acetate를 넣고 추출용기에서 24 시간 동안 4 회씩 추출을 반복하여 이를 모았다. 모아진 추출액을 여과한 다음 진공농축기에서 감압 농축하여 1.7 g의 시료를 얻었다. 시료의 처리는 14-55 uM의 농도별을 48 시간 동안 배양 인체피부흑색종세포에 처리후 분석하였다.

활성측정

CAA는 Borenfreund와 Puerner(1984)의 방법에 따라 행하였다. 즉, 배양중인 인체피부흑색종세포에 약제나 추출물을 일정 시간 동안 처리한 후 배양액을 버리고 PBS로 3 회 세척하였다. 세척 완료후 50 ug/ml의 XTT를 넣어 4 시간 동안 반응시킨 다음 dimethylsulfoxide(DMSO, Sigma)로 처리하여 ELISA reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase활성의 측정은 Choi 등(1998)의 변형된 방법에 따라 0.1 M sodium phosphate buffer, 1.5 mM tyrosinase 효소액(1250 U/ml)을 넣은후 37°C에서 15 분 동안 반응시킨 다음 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase 활성저해능은 대조군에 대한 백분율로 표시하였다. 멜라닌합성량의 측정은 Hosoi 등(1985)의 변형된 방법에 따라 배양세포를 원침후 세포침전물에 1 N NaOH와 10% DMSO를 첨가하여 80°C에서 1 시간 동안 처리한 다음 405

nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌양은 대조군에 대한 백분율로 표시하였다.

연꽃수술추출물의 항산화효과 측정

H₂O₂의 세포독성에 대한 연꽃수술추출물의 항산화에 대한 영향을 조사하기 위하여 H₂O₂를 처리하기 2 시간 전에 150-200 ug/ml의 농도로 포함된 배양액에서 인체피부흑색종세포를 처리한 다음 CAA를 대조군과 비교 조사하였다.

결과 및 고찰

과산화수소(H₂O₂)의 세포부착율(CAA) 측정

H₂O₂는 배양세포의 CAA를 처리농도에 비례하여 감소시켰으며 특히, 10 uM의 처리에서 93.0%(3.88 ± 0.34)로 CAA₉₀ 값을 나타냈다(Table 1). 동시에, 위와 동일한 실험 조건에서 30 uM의 처리에서 CAA₅₀값이 나타남으로서 유의한 CAA의 감소를 보였다(Table 2). 본 실험에서 H₂O₂는 Borenfreund와 Puerner(1984)의 독성판정기준에 의하여 고독성인 것으로 나타났다. 즉, 이들은 독성판정기준에서 약제의 XTT₅₀값이나 MTT₅₀값이 100 uM 이하이면 고독성으로 판정하였다. 본 실험에서 H₂O₂가 세포독성을 보인 것은 아마도 H₂O₂의 산화적 손상으로 초래된 지질과산화반응에 의한 막손상을 비롯하여 세포내 효소활성의 억제나, 또는 다량의 세포내 칼슘유입등의 요인들이 세포손상을 유발하여 세포부착율을 감소시켰을 가능성이 클 것으로 생각된다(Leonard et al., 2000, Hah et al., 2005). 이러한 이유의 하나로는 CAA의 분석이 세포내 효소활성이나 막손상과 같은 변화를 정량하는 분석방법이기 때문이다(Mosmann, 1983). 본 실험에서 H₂O₂의 세포독성은 타 연구들에서 보고한 H₂O₂로 인한 신경독성이나, 혈독성등의 보고들과 일치함을 알 수 있었다(Jesberger and Richardson, 1991; Leonardo et al., 2000). H₂O₂와 같은 활성산소(reactive oxygen species, ROS)의 산화적 손상을 측정하는 방법은 세포생존율(cell viability) 측정을 비롯하여 세포내 자유라디칼생성량 측정 및 lactate dehydrogenase(LDH) 활성등과 같은 다양한 방법들이 적용되고 있다(Mosmann, 1983). 특히, CAA는 세포소기관의 하나인 사립체의 활성을 분석하는 비색분광법(colorimetric assay)의 하나로 다른 분석방법에 비하여 세포내 산화, 환원과 관계되는 전달전달계와 밀접한 관련이 있어서 산화적 손상을 측정하는데

Table 1. The light absorbance for the cell adhesion activity (CAA) of cultured SK-MEK-3 cells damaged by H₂O₂

Concentration of H ₂ O ₂ (uM)	XTT assay(450 nm)	
	Mean ± S.D.	(% of control)
Control	4.17 ± 0.37	100
5	4.00 ± 0.28	96.0
10	3.88 ± 0.34	93.0
15	3.29 ± 0.47	78.9

Human skin melanoma cells (SK-MEL-3) were treated with H₂O₂ for 9 hours. The data represent the mean ± SD for triplicate experiments.

Table 2. The light absorbance for the cell adhesion activity (CAA) of cultured SK-MEK-3 cells damaged by H₂O₂

Concentration of H ₂ O ₂ (uM)	CAA assay(450 nm)	
	Mean ± S.D.	(% of control)
Control	4.84 ± 0.29	100
10	4.52 ± 0.57	93.4
20	4.07 ± 0.37	84.1
30	2.35 ± 0.16	48.6*

Human skin melanoma cells (SK-MEL-3) was treated with H₂O₂ for 9 hours. The data represent the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from the control. *p<0.01

있어서 매우 민감하고도 정확한 정량적인 분석방법으로 알려져 있다(Borenfreund and Puerner, 1984).

Hydrogen peroxide의 세포독성에 대한 연꽃수술추출물의 항산화 효과

H₂O₂의 세포독성에 대한 NNS추출물의 항산화 영향을 조사하기 위하여 배양 인체피부흑색종세포에 ACC₅₀농도의 H₂O₂를 처리하기 전에 150 ug/ml에서 200 ug/ml의 NNS추출물이 각각 포함된 배양액에서 2 시간 동안 처리한 후 CAA를 조사하였다. 그 결과 150 ug/ml과 200 ug/ml의 NNS추출물 처리에서는 대조군에 비하여 각각 44.8%와 79.7%로 나타났다. 특히, 200 ug/ml의 NNS추출물의 처리에서는 H₂O₂만의 처리에 비하여 유의하게 CAA가 증가하였다(p<0.01) (Table 3). 본 실험 결과는 NNS추출물이 H₂O₂에 의한 산화적 손상을 방어함으로써 CAA의 증가를 나타냈음을 말해 주고 있으며(Lee et al., 2006), 이같은 NNS추출물의 항산화 효과는 타 연구자들이 보고한 NNS에 대한 항산화능과도 일치하였다(Jung et al., 2003; Lee et al.,

Table 3. The antioxidative effect of NNS extract on H₂O₂ induced cytotoxicity in cultured SK-MEK-3 cells

Concentration of NNS(μg/ml)	CAA assay(450 nm)	
	Mean ± S.D.	(% of control)
Control	6.98 ± 0.71	100
H ₂ O ₂ (ACC ₅₀)	2.64 ± 0.25	37.8
150	3.13 ± 0.28	44.8
200	5.56 ± 0.46	79.7**

Human skin melanoma cell was pretreated with NNS extract for 2 hours. The data represent the mean ± SD for triplicate experiments. Significantly different from the H₂O₂ treated group. **p<0.01

Table 4. The tyrosinase inhibitory activity of NNS extract by colorimetric assay

Concentration of NNS(ug/ml)	Tyrosinase inhibitory activity(490 nm)	
	% of control	
Control	0	
130	4.3 ± 0.36	
190	6.5 ± 0.57*	

The data represent the mean ± SD for triplicate experiments. Significantly different from the control. *p<0.05

Table 5. The effect of NNS extract on total amount of melanin synthesis by colorimetric assay

Concentration of NNS(ug/ml)	Total amount of melanin synthesis(405 nm)	
	% of control	
Control	100 ± 9.2	
130	92.0 ± 7.5*	
190	90.2 ± 6.4*	

The data represent the mean ± SD for triplicate experiments. Significantly different from the control. *p<0.05

2006). 연꽃성분의 일종인 kaempferol과 같은 flavonoid 성분에 대한 약리활성은 항산화 외에도(Kanakis et al., 2007), 항염, 항당뇨, 신경보호효과 (Marzouk et al., 2007) 등 다양하게 알려져 있다. 그러나 항산화를 비롯한 이들 대부분의 연구는 잎이나 꽃, 줄기를 대상으로 이루어져 왔으며 이에 비하여 연꽃수술에 대한 연구는 그리 많지 않다(Leung et al., 2007). 특히, 식물추출물의 성분은 동일한 성분일 지라도 식물종은 물론, 한 식물에서도 부위별로 약리활성이 조금씩 다르게 나타날 뿐만 아니라 더우기 추출용매에 따라서 용출되는 성분이 동일부위에서도 다소 다르기 때문

에 이의 효능이나 생리활성도 똑같이 나타나지는 않는다고 알려져 있다 (Lee et al., 2006). 일반적으로 많은 연구에 있어서 추출용매제로 에탄올을 비롯한 메탄올과 같은 극성 용매들이 주로 많이 사용되고 있으나 이에 비하여 중극성 용매에 속하는 ethyl acetate에 의한 추출물은 다른 용매제에 의한 추출물 보다는 비교적 약리활성이 더욱 좋은 것으로 보고된 바 있다(Lee et al., 1997). 따라서, 본 실험에서는 위와 같은 측면을 고려하여 ethyl acetate에 의하여 추출된 NNS추출물의 항산화 영향을 조사함으로써 ROS에 대한 NNS추출물 성분에 대한 약리활성을 밝히고자 하였다. 한편, 항산화효과에 대한 분석은 시료를 대상으로 한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)를 이용한 항산화 분석을 비롯하여 superoxide dismutase(SOD) 유사활성 및 ferric thiocyanate(FTC)에 의한 지질과산화측정등이 이용되고 있으나(Hah et al., 2005), 본 실험에서는 배양 세포에 직접 ROS를 처리함으로써 세포에 미치는 NNS추출물의 항산화효과를 직접적으로 정량분석 하였다.

연꽃수술추출물이 멜라닌화에 미치는 영향

한편, H₂O₂와 같은 활성산소는 멜라닌합성을 촉진시킴으로서 피부미백은 물론 심지어는 피부의 색소침착병이나 또는 흑색종과 같은 피부암을 유발하기도 한다(Kuwata et al., 1993). 멜라닌의 합성은 tyrosinase의 활성과 밀접한 관련이 있으며 장시간 동안 햇빛의 자외선노출이나 MSH와 같은 호르몬의 분비에 의하여 활발하게 작용한다(Dimri et al., 1996). 특히, 자외선노출에 의하여 형성된 활성산소는 멜라닌세포를 자극하여 멜라닌생성을 촉진한다고 알려져 있다(Gates et al., 2007). 따라서 멜라닌의 과합성의 억제나 저해는 색소침착이나 흑색종을 치료하는데 효과적인 방법의 하나로 알려져 있다(Kang et al., 2007). 최근에는 산수유와 같은 식물들에서 항산화물질을 추출하여 활성산소의 산화적 손상에 의한 피부질환을 치료하는데 많은 관심이 집중되고 있다(Peng et al., 1998; Hah et al., 2005). 본 실험에서는 H₂O₂에 대한 NNS추출물의 멜라닌화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 티로시나제활성저해능과 총멜라닌합성량을 측정하였다.

Tyrosinase 활성저해능을 측정하기 위하여 130 ug/ml와 190 ug/ml의 NNS추출물이 각각 포함된 배양액에서 배양인체흑색종세포를 처리하였다. 그 결과 130 ug/ml과 190 ug/ml의 NNS추출물처리에서는 대조군에 비하여 각각 4.3%

와 6.5%로 나타났으며, 특히, 190 ug/ml농도의 NNS추출물에서는 tyrosinase 활성저해능 대조군에 비하여 유의하게 감소시켰다($p < 0.05$) (Table 4). 이같은 결과는 NNS추출물이 tyrosinase의 활성을 저해하였음을 말해 주고 있다 (Kuwata et al., 1993). 따라서 본 실험에서는 이를 확인하기 위하여 동일 농도에서 총멜라닌합성량을 조사하였다. 그 결과 130 ug/ml과 190 ug/ml의 NNS추출물에서 총멜라닌양은 대조군에 비하여 각각 92.0%와 90.2%로 나타나 모두 대조군에 비하여 유의하게 감소한 것으로 나타났다 ($p < 0.05$) (Table 5). 본 실험 결과로부터 NNS추출물이 tyrosinase activity를 억제하여, 그 결과 멜라닌합성이 저해되었음을 알 수 있었다(Choi et al., 1998; Lee et al., 2006). 멜라닌화에 대한 연구로는 brazilin이나 quercetin 등과 같은 flavonoid구조가 흑색종세포에서 멜라닌화를 억제하였다고 보고되었으며(Chun et al., 2001), NNS성분으로 flavonoid계통인 kaempferol에 대하여 멜라닌화의 주된 유발요인의 하나인 ROS에 대한 저해효과가 보고된 바 있다(Lee et al., 2006; Leung et al., 2007). 본 실험에서 NNS추출물이 배양 인체흑색종세포에서 멜라닌화를 방어한 것은 kaempferol과 같은 일부 NNS성분이 가지고 있는 분자구조에 수산기나 catechol moiety에 의한 작용에 기인한 것으로 생각된다(Wang et al., 2006). 특히, 수산기는 다른 화합물과 친화력이 강하여 쉽게 결합함으로써 항암을 비롯한 항균, 항염, 항독, 항산화, 항색소침착 등과 같은 다양한 약리활성을 나타낸다고 보고되었다(Jung et al., 2003; Marzouk et al., 2007). 앞으로 더욱 자세한 NNS추출성분에 대한 생리활성검색을 위해서는 우선 kaempferol과 같은 각 구성성분들에 대한 정확한 분자구조는 물론이며 또한, 단독 또는 복합성분에 대한 약리활성에 대한 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

적 요

활성산소의 하나인 과산화수소(hydrogen peroxide, H_2O_2)에 대한 세포독성과 이에 대한 연꽃수술(*Nelumbo nucifera* stamen, NNS)추출물의 항산화효과 및 멜라닌화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 세포부착율 (cell adhesion activity, CAA)을 비롯한 티로시나제활성저해능 및 총멜라닌합성량을 분석하였다. 본 실험 결과 hydrogen peroxide(H_2O_2)는 배양 인체피부흑색종세포 (SK-MEL-3)의

CAA를 유의하게 감소시킴으로서 세포독성효과를 나타냈다. 이에 대하여 NNS추출물은 H_2O_2 의 산화적 손상에 의하여 감소된 CAA를 유의하게 증가시킴으로서 항산화효과를 나타냈다. 한편, H_2O_2 에 대한 NNS추출물의 멜라닌화에 대한 영향에 있어서 NNS추출물은 H_2O_2 에 의하여 활성화된 티로시나제활성과 총멜라닌합성량을 감소시킴으로서 멜라닌화에 대하여 억제효과를 나타냈다. 이상의 결과로부터 H_2O_2 는 배양 인체피부흑색종세포에 고독성을 나타냈으며 NNS와 같은 식물추출물은 H_2O_2 와 같은 활성산소에 의한 산화적 손상 및 멜라닌화를 방어하는데 효과적인 것으로 나타났다.

사 사

이 논문은 2007년도 원광대학교의 교비 지원에 의해서 연구됨.

인용문헌

- Borenfreund, E. and J.A. Puemer. 1984. A simple quantitative procedure using monolayer culture for cytotoxicity assay (HTD/NR-90). *J. Tiss. Cult. Meth.* 9:7-9.
- Choi, B.W., B.H. Lee, K.J. Kang, E.S. Lee, and N.H. Lee. 1998. Screening of the tyrosinase inhibitors from marine algae and medicinal plants. *Kor. J. Pharmacogn* 29:237-242.
- Chun H.J., Y.S. Kim, H.W. Nam, S.C. Yoon and W.H. Woo. 2001. Effects of Ethyl Acetate Extract from *Caesalpinia sappan* L. on Melanogenesis. *Korean J. Oriental Medical Physiology & Pathology.* 15(6):961-966.
- Dimri, G.P., A. Testori, M. Acosta and J. Campisi. 1996. Replicative senescence, aging and growth-regulatory transcription factors. *Biol. Signals* 5:154-162.
- Gates, M.A., S.S. Tworoger, J.L. Hecht, I. De Vivo, B. Rosner and S.E. Hankinson. 2007. A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer. *Int. J. cancer* 121(10):2225-2232.
- Hah, D.S., C.H. Kim, G.S. Kim, E.G. Kim and J.S. Kim. 2005. Antioxidant effects of traditional medicinal plants on lipid peroxidation. *Korean J. Ver. Res.* 45(3):341-350.
- Hosoi, J., E. Abe, T. Suda and T. Kuroki. 1985. Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 α -25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Res.* 45:1474-

- 1479.
- Jesberger, J.A. and J.S. Richardson. 1991. Oxygen free radicals and brain dysfunction. *Int. J. Neurosci.* 57:1-17.
- Jung, H.A., J.E. Kim, H.Y. Chung and J.S. Choi. 2003. Antioxidant principles of *Nelumbo nucifera* stamens. *Arch. Pharm. Res.* 26(4):279-285.
- Kang, J.R., J.Y. Lee and W.K. Whang. 2007. Antioxidant Activity and Tyrosinase Inhibitory Activity of *Elscholtziae Splendense*. *J. Kor. Soc. Cosm.* 13:163-170.
- Kanakis, C.D., P.A. Tarantilis, M.G. Polissiou, S. Diamantoglo and H.A. Tajmir-Riahi. 2007. An overview of DNA and RNA bindings to antioxidant flavonoids. *Cell Biochem. Biophys.* 49(1):29-36.
- Kuwata, T., M. Kitagawa and T. Kasuga. 1993. Proliferative activity of primary cutaneous melanocytic tumors. *Virchows. Archiv. A. Pathol. Anat.* 423:359-367.
- Lee, K.S., M.G. Kim and K.Y. Lee. 2006. Antioxidative activity of ethanol extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 35:182-186.
- Lee, K.M., H.H. Shin, D.S. Han, Y.O. Kim, K.E. Choi, J.S. Kang and S.H. Baek. 1997. Development of Anticancer Agents from Korean Medicinal Plants. Part 5. Cytotoxic Activity of the Butanol Soluble Fraction of *Perilla frutescens* against Human Skin Melanoma Cells. *Kor. J. Pharmacogn.* 28(4):264-270.
- Leonard, S., S. Wang, L. Zang, V. Castranova, V. Vallyathan and X. Shi. 2000. Role of molecular oxygen in the generation of hydroxyl and superoxide anion radicals during enzymatic Cr(VI) reduction and its implication to Cr(VI)-induced carcinogenesis. *J. Environ. pathol. toxicol. oncol.* 19(1-2):49-60.
- Leung, H.W., C.J. Lin, M.J. Hour, W.H. Yang, M.Y. Wang and H.Z. Lee. 2007. Kaempferol induced apoptosis in human lung non-small carcinoma cells accompanied by an induction of antioxidant enzymes. *Food Chem. Toxicol.* 45(10):2005-2013.
- Marzouk, M. S., F.M. Soliman, I.A. Shehata, M. Rabee and G.A. Fawzy. 2007. Flavonoids and biological activities of *Jussiaea repens*. *Nat. Prod. Res.* 21(5):436-447.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxic assay. *J. Immun. Methods* 65:55-63.
- Park, S.T., K.T. Lim, Y.T. Chung and S.U. Kim. 1996. Methylmercury-induced neurotoxicity in cerebral neuron culture is blocked by antioxidants and NMDA receptor antagonists. *Neurotoxicology* 17:37-46.
- Park, S.Y., T.Y. Hwang, J.H. Kim and K.D. Moon. 2001. Quality changes of minimally processed lotus root (*Nelumbo nucifera*) with browning inhibitors. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 8:164-168.
- Peng, Q., Z. Wei and B.H. Lau. 1998. Corni fructus enhances endothelial cell antioxidant defenses. *General Pharmacology* 31(2):221-227.
- Wang L., Y.C. Tu, T.W. Lian, J.T. Hung J.H. Yen and M.J. Wu. 2006. Distinguive antioxidant and antiinflammatory effects of flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 54(26):9798-9804.

(접수일 2009.12.19; 수락일 2010.3.4)