

한약재로부터 Tyrosinase 저해제의 탐색

서승염

공주대학교 생물학과 및 (주)약용자원콜렉션

Screening of Tyrosinase Inhibitors from Oriental Herbs

Sung-Yum Seo

Department of Biology, Kongju National University, and Korean Collection of Herbal Extracts, Inc.,
Kongju Chungnam 314-701

ABSTRACT

Mammalian tyrosinase plays an important role in the process of melanin polymer biosynthesis by catalyzing the hydroxylation of tyrosine to 3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA) and the oxidation of DOPA to dopaquinone. These processes are major determinant of human skin color and involved in localized hyperpigmentation. Therefore, the enzyme inhibitors have been of great concern as skin-whitening cosmetics. Methanol extracts of 174 oriental herbs were screened for the mushroom tyrosinase inhibitory activity.

Key words : inhibition, extracts, melanin, skin, DOPA

서 언

기미, 주근깨 등 피부에 생기는 색소침착은 표피 내에서 멜라닌(melanin)색소의 증가에 기인하고 있고, 멜라닌은 표피기저층에 존재하는 멜라노사이트(melanocyte)라고 불리는 색소세포내의 melanosome에서 생합성된다. 자외선에 의하여 멜라노사이트의 유사분열이 일어나고 이어서 멜라노사이트가 활성화된다. 활성화된 멜라노사이트에서는 tyrosinase의 합성이 촉진되고 멜라닌의 생성이 향진되어 이를 표피 밖으로 운반 배출하게 된다 (Gibbs etal, 2000;

Abdel-Malek etal, 2000).

자연적으로 생성되는 멜라닌은 알칼리 난용성의 흑색 멜라닌(eumelanin)과 알칼리 가용성의 황색 내지는 적색 멜라닌(pheomelanin)의 혼합물이다(Ito etal, 2000). Tyrosine → DOPA → dopaquinone → dopachrome → 5,6-dihydroxy indole → indole 5,6-quinone → 멜라닌의 과정을 거쳐서 멜라닌이 합성된다.

Tyrosinase는 피부 멜라닌생성에 있어서 매우 중요한 역할을 하고 있으며, melanosome 내에서 tyrosine을 산화시켜 DOPA를 만드는 tyrosine hydroxylase로, 동시에 DOPA를 산화시켜

Corresponding author: 서 승 염, 우. 301-704, 충남 공주시 신관동 공주대학교 생물학과
Tel: (041) 850-8503, Fax: (041) 854-8503

dopaquinone을 만드는 DOPA oxidase로서 작용하여 melanin 합성의 초기단계에 중요하게 작용한다. 그러므로 tyrosinase의 활성 억제를 통해 피부내에서의 멜라닌중합체 합성을 효과적으로 저해할 수 있다. 따라서 피부미백제의 개발에 있어서 tyrosinase활성 억제 실험은 유용한 평가법으로 인정되고 있다.

멜라닌 색소생성에 관여하는 인자로는 tyrosinase(Hearing 와 Jimen, 1987) 이외에도 dopachrome conversion factor(Korner와 Pawelek, 1980), prostaglandin(Lidquist etal, 1999), interferon(Giacomini etal, 1985) 또는 melanocyte stimulating hormone(Sawyer etal, 1982), 비타민 D3(Tomita etal, 1986), histamine등이 보고되어 있으며, 그 중 tyrosinase가 주요인자로 인식되고 있다.

멜라닌 생성 억제물질은 멜라닌 생성의 주효소인 tyrosinase자체를 직접 억제하거나 tyrosinase에 대해서는 직접적인 억제를 나타내지 않지만 생성된 세포 내에서 멜라닌 생성을 억제한다. 그 중 tyrosinase 활성저해실험이 멜라닌 중합체 억제제 개발의 초기 탐색단계에서 채택되고 있다(Matsukami, 1995).

DOPA를 기질로 하여 생성되는 dopachrome양을 측정하는 DOPA oxidase의 활성으로 Tyrosinase 활성을 측정하여 미백제에 대한 탐색이 이루어진다. 위의 탐색법으로 현재 kojic acid(Curto etal, 1999), arbutin(Akiu etal, 1991), ascorbic acid(Haas, 1974) 유도체가 tyrosinase 활성 억제제 개발되어 화장품에 첨가되어 미백제로 사용된다.

본 연구자는 피부 멜라닌 생성에 있어서 주효소인 tyrosinase에 대하여 억제활성을 갖는 물질을 천연물로부터 개발할 목적으로 전국 각지에서 구입한 한약재 174종의 Methanol 추출물로부터 tyrosinase 활성 억제제를 탐색하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 서지학적인 정보를 통하여 한방에 쓰이고 있는 한약재를 서울 경동시장 및 각지 한약방에서 구입하여 사용하였다.

시약 - 시약용 1급을 사용하였다. Tyrosinase 활성실험에 사용된 효소는 mushroom tyrosinase (Sigma, Inc T 7775)를, 기질은 L-DOPA(L-3,4-dihydroxy-phenylalanine, D 9628, Sigma, Inc)을 사용하였다.

기기 - Microplate reader는 Molecular Devices사의 OPTImax tunable microplate reader를 사용하였다.

추출물제조 - 건조된 한약재들을 물 30%, MeOH 70% 혼합액으로 상온에서 30일간 추출하였다. 추출액을 솜으로 여과시킨 후 여액을 회전진공농축기로 농축시켰다. 추출액을 따라낸 후 혼합액을 넣어서 다시 위와 같이 추출, 여과, 농축 후 1차로 나온 농축액과 합쳐서 -20℃에 보관하였다. 한약재 건조중량 0.3g에 해당하는 추출물들을 tyrosinase 저해활성 측정용 시료로 사용하였다.

Tyrosinase 저해활성 측정 - Tyrosinase의 활성은 microplate에 60mM phosphate buffer (pH 6.8)와 한약재 sample들 건조중량 0.3g에 해당하는 추출물을 넣어 총량을 100 μ l로 맞추었다. 후에 희석해 놓은 기질 40 μ l (39.44 μ g)을 넣고, 효소 40 μ l (2.336 μ g)을 넣어 37℃에서 한 시간 동안 반응시켰다. 반응 후, stop solution(1M HCl) 20 μ l를 넣은 후 생성된 dopachrome의 양을 microplate reader로 Ab₄₉₂ 측정 후 계산하였다. 시료의 첨가에 의한 activity의 변화를 관찰하여 효소 활성저해 정도를 평가하였다.

Tyrosinase 저해활성(%)=

$$\frac{\text{Control의 Ab}_{492} - \text{시료용액이 첨가된 것의 Ab}_{492}}{\text{Control의 Ab}_{492}} \times 100$$

결과 및 고찰

한약재 추출물의 tyrosinase 저해활성 - 피부의 멜라닌 생성에 주효소로 작용하는 tyrosinase활성에 영향을 주는 물질을 천연물로부터 탐색, 분리하기 위하여 본 실험을 실시하였다. 174가지의 한약재를 대상으로 mushroom tyrosinase에 대한 효소 활성을 측정 한 결과, 한약재 추출물 중 오배자, 산작약, 육두구,

Table 1. Tyrosinase inhibitory effects of methanol extracts of 174 oriental herbs

| No. | Oriental herbs | Inhibition ^a (%) | No. | Oriental herbs | Inhibition ^a (%) |
|-----|--|-----------------------------|-----|---------------------------------------|-----------------------------|
| 01 | 가구자 <i>Allium tuberosum</i> | 41.8±2.5 | 41 | 마황 <i>Ephedra sinica</i> | 12.5±2.2 |
| 02 | 가래열매 <i>Juglans mandshurica</i> | 49.3±3.4 | 42 | 마황근 <i>Ephedra sinica</i> | 54.1±3.2 |
| 03 | 가자 <i>Terminalia chebula</i> | 23.3±1.2 | 43 | 만형자 <i>Vetex rotundifolia</i> | 39.5±2.4 |
| 04 | 가죽나무열매 <i>Ailanthus altissima</i> | 1.5±2.5 | 44 | 맥문동 <i>Liriope platyphylla</i> | 24.7±5.1 |
| 05 | 감국 <i>Chrysanthemum boreale</i> | 15.7±2.3 | 45 | 맥아 <i>Hoarded vulgare</i> | 35.1±4.2 |
| 06 | 감나무 <i>Diospyros kaki</i> | 21.7±2.2 | 46 | 모과나무 <i>Chaenomeles sinensis</i> | 20.5±1.8 |
| 07 | 감초 <i>Glycyrrhiza uralensis</i> | 51.1±3.2 | 47 | 목단피 <i>Paeonia suffruticosa</i> | 17.2±3.2 |
| 08 | 강활 <i>Ostericum koreanam</i> | 29.8±3.2 | 48 | 목별자 <i>Momordica cochunchunensus</i> | 2.6±3.0 |
| 09 | 개피 <i>Beckmannia syzizachne</i> | 50.0±2.4 | 49 | 목적 <i>Equisetum hymale</i> | 0.0±2.0 |
| 10 | 건강 <i>Zingiber officinale</i> | 32.4±3.2 | 50 | 미후리 <i>Actinidia arguta</i> | 69.9±1.1 |
| 11 | 건지황 <i>Rehmannia glutinosa</i> | 10.8±1.2 | 51 | 박하 <i>Mentha arvensis</i> | 42.8±2.1 |
| 12 | 견우자 <i>Pharbitis nil</i> | 16.1±1.3 | 52 | 백개자 <i>Brassica campestris</i> | 4.4±1.5 |
| 13 | 결명자 <i>Cassia tor</i> | 5.5±3.0 | 53 | 백급 <i>Bletilla striata</i> | 0.0±2.0 |
| 14 | 계혈등 <i>Spatholobus suberectus</i> | 10.1±1.3 | 54 | 백렴 <i>Ampelopsis japonica (Thunb)</i> | 8.4±2.2 |
| 15 | 고본 <i>Ligusticum sinense</i> | 31.4±3.2 | 55 | 백미 <i>Cynanchum atratum</i> | 31.1±2.8 |
| 16 | 고추 <i>Capsicum annuum</i> | 15.2±3.8 | 56 | 백부자 <i>Aconitum koreanum</i> | 11.0±1.9 |
| 17 | 골담초 <i>Caragana sinica</i> | 2.0±2.2 | 57 | 백선피 <i>Dictamnus albus</i> | 15.3±1.1 |
| 18 | 골쇄보 <i>Drynaria fortunei</i> | 47.2±5.0 | 58 | 백자인 <i>Thuja orientalis</i> | 10.0±1.2 |
| 19 | 과루근 <i>Trichosanthes kirilowii</i> | 15.8±1.2 | 59 | 백질려 <i>Tribulus terrestris</i> | 2.3±2.2 |
| 20 | 관동화 <i>Tussilago farfara</i> | 36.2±3.2 | 60 | 백합 <i>Lilium longiflorum</i> | 11.9±2.8 |
| 21 | 괴화 <i>Sophora japonica</i> | 12.8±2.1 | 61 | 부소맥 <i>Triticum aestivum</i> | 11.2±2.3 |
| 22 | 구척 <i>Cibotiumj barometz</i> | 3.8±3.2 | 62 | 비자 <i>Torreya nucifera</i> | 8.4±2.3 |
| 23 | 구판 <i>Chinemys reevesii</i> | 21.6±2.2 | 63 | 비파엽 <i>Eriobotrya japonica</i> | 85.0±2.2 |
| 24 | 국화 <i>Chrysanthemum morifolium</i> | 14.8±1.4 | 64 | 비해 <i>Dioscorea tokoro</i> | 28.6±0.3 |
| 25 | 금은화 <i>Loicera japonica</i> | 31.8±1.9 | 65 | 빈랑 <i>Areca catechu</i> | 42.2±3.2 |
| 26 | 길경 <i>Platycodon grandiflorum</i> | 20.2±1.1 | 66 | 뽕나무 <i>Morus alba</i> | 9.9±4.3 |
| 27 | 나복자 <i>Raphanus sativus var. acanthiformis</i> | 0.3±1.2 | 67 | 사군자 <i>Quisqualis indica</i> | 0.4±2.1 |
| 28 | 노간주 <i>Juniperus rigida</i> | 20.2±2.3 | 68 | 사상자 <i>Torilis japonica</i> | 1.9±1.9 |
| 29 | 노회 <i>Aloe vera</i> | 7.5±2.2 | 69 | 사인 <i>Amomum villoisum</i> | 0.0±2.9 |
| 30 | 단삼 <i>Salvia miltiorrhiza</i> | 24.1±3.2 | 70 | 사철 <i>Euonymus japonica</i> | 10.7±2.3 |
| 31 | 당귀 <i>Angelica sinensis</i> | 2.2±3.2 | 71 | 산자고 <i>Cremastra appendicurata</i> | 36.1±2.8 |
| 32 | 대계근 <i>Cirsium maackii</i> | 14.6±3.2 | 72 | 산작약 <i>Paeonia lactiflora</i> | 91.5±4.2 |
| 33 | 더덕 <i>Codonopsis lanceolata</i> | 20.9±2.1 | 73 | 산조인 <i>Zizyphus jujuba</i> | 70.9±2.1 |
| 34 | 돌미나리 <i>Oenanthe javanica</i> | 29.6±2.3 | 74 | 삼자 <i>Echinochloa crusgalli</i> | 12.3±1.2 |
| 35 | 동규자 <i>Malva verticillata</i> | 28.7±2.3 | 75 | 상심자 <i>Morus alba</i> | 24.5±2.4 |
| 36 | 두충 <i>Eucommia ulmoides</i> | 33.6±3.2 | 76 | 상표초 <i>Hierodula patellifera</i> | 21.6±2.5 |
| 37 | 들깨 <i>Perilla frutescens var. japonica</i> | 12.4±2.7 | 77 | 석결명 <i>Cassia occidentalis</i> | 12.7±1.6 |
| 38 | 등심초 <i>Juncus effusus</i> | 21.4±4.2 | 78 | 석곡 <i>Dendrobium moniliforme</i> | 26.3±2.3 |
| 39 | 마두령 <i>Aristolochia contorta</i> | 15.7±1.1 | 79 | 선모 <i>Curculigo orchioides</i> | 41.3±1.6 |
| 40 | 마치현 <i>Portulaca oleracea</i> | 12.5±1.3 | 80 | 선복화 <i>Inula britannica</i> | 21.6±2.1 |

| No. | Oriental herbs | Inhibition ^a (%) | No. | Oriental herbs | Inhibition ^a (%) |
|-----|---|-----------------------------|-----|---|-----------------------------|
| 81 | 선인장 <i>Opuntia ficus-indica</i> | 58.3±2.3 | 121 | 인진 <i>Artemisia capillaris</i> | 24.5±2.1 |
| 82 | 소계(영경귀) <i>Cirsium maackii</i> | 9.3±2.2 | 122 | 자원 <i>Aster tataricus</i> | 79.0±1.1 |
| 83 | 소목 <i>Caesalpinia sappan</i> | 0.2±2.2 | 123 | 자초 <i>Lithospermum erythrorhizon</i> | 4.6±1.0 |
| 84 | 소자 <i>Perilla frutescens</i> | 19.8±2.4 | 124 | 작약 <i>Paeonia laciflora</i> | 50.1±2.3 |
| 85 | 송진 <i>Pinus densiflora</i> | 21.2±1.2 | 125 | 제니 <i>Adenophora remotiflora</i> | 23.8±2.2 |
| 86 | 쇠양 <i>Cynomorium songaricum</i> | 34.6±2.4 | 126 | 죽엽 <i>Phyllostachys nigra var. henonis</i> | 29.9±2.6 |
| 87 | 승마 <i>Cimicifuga geracleifolia</i> | 0.0±2.7 | 127 | 적작약 <i>Paeonia lactiflora</i> | 32.5±2.3 |
| 88 | 산두 <i>Oryza sativa</i> | 6.8±2.2 | 128 | 접시꽃 <i>Althaea rosea</i> | 10.6±1.6 |
| 89 | 석류 <i>Punica granatum</i> | 1.7±1.2 | 129 | 정향나무 <i>Syringa nelutina</i> var. <i>venosa</i> | 28.5±2.3 |
| 90 | 소나무 <i>Pinus densiflora</i> | 12.4±3.2 | 130 | 지골피 <i>Lycium chinense</i> | 11.6±1.2 |
| 91 | 수국 <i>Hydrangea macrophylla</i> for. <i>otaksa</i> | 15.4±3.2 | 131 | 지유 <i>Sanguisorbba officinalis</i> | 72.8±4.2 |
| 92 | 쉽사리 <i>Lycopus ramosissimus</i> | 19.8±2.5 | 132 | 지황 <i>Rehmannia glutinosa</i> | 41.2±2.2 |
| 93 | 시체 <i>Diospyros kaki</i> | 5.6±2.3 | 133 | 지황과 <i>Viola grypoceras</i> | 22.3±2.2 |
| 94 | 시호 <i>Bupleurum falcatum</i> | 39.4±3.3 | 134 | 진교 <i>Gentiana macrophylla</i> | 36.5±1.1 |
| 95 | 싸리 <i>Lespedeza bicolor</i> | 1.4±2.3 | 135 | 진범 <i>Aconitum</i> <i>pseudo-laeve</i> var. <i>erectum</i> | 3.4±2.2 |
| 96 | 아까시나무 <i>Robinia pseudo-acacia</i> | 15.6±2.5 | 136 | 진피 <i>Fraxinus rhynchophylla</i> | 22.1±2.7 |
| 97 | 알로에 <i>Aloe ferox</i> | 49.2±2.2 | 137 | 차전자 <i>Plantago asiatica</i> | 36.4±3.3 |
| 98 | 애엽 <i>Artemisia princeps</i> | 28.5±3.2 | 138 | 창이자 <i>Xanthium strumarium</i> | 31.5±2.2 |
| 99 | 앵도 <i>Prunus tomentosa</i> | 48.2±2.1 | 139 | 창출 <i>Atractylodes japonica</i> | 23.8±2.0 |
| 100 | 양강 <i>Alpinia officinarum</i> | 31.3±3.4 | 140 | 천궁 <i>Lingustieum chuangxiong</i> | 24.8±2.3 |
| 101 | 양제근 <i>Rumex japonicus</i> | 15.2±1.6 | 141 | 천남성 <i>Arisaema amurense</i> var. <i>serratum</i> | 10.3±3.2 |
| 102 | 여정실 <i>Ligustrum japonicum</i> | 21.4±3.2 | 142 | 천축계 <i>Cinnamomum jaonicum</i> | 6.5±2.5 |
| 103 | 오매 <i>Prunus mume</i> | 2.1±1.0 | 143 | 청상자 <i>Celosia argentea</i> | 0.0±1.8 |
| 104 | 오배자 <i>Rhus javanica</i> | 94.0±2.1 | 144 | 청피사초 <i>Carex macrandrolepis</i> | 10.5±2.1 |
| 105 | 오수유 <i>Evodia rutaecarpa</i> | 11.3±3.2 | 145 | 초두구 <i>Alpinia katsumadai</i> | 0.0±2.1 |
| 106 | 와송 <i>Orostachys japonicus</i> | 23.3±2.3 | 146 | 초오 <i>Aconitumsiliare</i> | 1.3±3.7 |
| 107 | 왕블류행 <i>Vaccaria sigitalis</i> | 76.3±5.2 | 147 | 콩 <i>Glycine max</i> | 13.6±3.0 |
| 108 | 용안육 <i>Euphoria langan</i> | 12.4± | 148 | 택란 <i>Lycopus lucidus</i> | 43.7±2.2 |
| 109 | 우방자 <i>Arcitum lappa</i> | 25.2±2.1 | 149 | 탱자 <i>Poncirus trifoliata</i> | 41.4±1.4 |
| 111 | 울금 <i>Curcuma longa</i> | 31.2±3.1 | 150 | 파두 <i>Corton tiglium</i> | 13.9±2.2 |
| 112 | 월견초 <i>Oenothera odorata</i> | 14.2±2.1 | 151 | 팔각회향 <i>Foeniculum vulgare</i> | 2.1±1.0 |
| 113 | 유향 <i>Boswellia neglecta</i> | 19.2±2.3 | 152 | 패모 <i>Fritillaria verticillata</i> | 12.2±1.8 |
| 114 | 육두구 <i>Myristica fragrans</i> | 85.0±1.4 | 153 | 편축 <i>Polygonum aveculare</i> | 2.3±1.5 |
| 115 | 육종용 <i>Cistanche deserticola</i> | 55.4±2.2 | 154 | 포공영 <i>Taraxacum mongolicum</i> | 15.6±3.2 |
| 116 | 울무 <i>Coix lachryma-jobi</i> var. <i>mayuen</i> | 23.9±2.0 | 155 | 학슬 <i>Daucus carota</i> | 9.8±2.3 |
| 117 | 은행나무 <i>Ginkgo biloba</i> | 19.3±2.2 | 156 | 한련초 <i>Eclipta prostrata</i> | 30.2±2.3 |
| 118 | 음양곽 <i>Epimedium kore-anum</i> | 21.5±3.0 | 158 | 합환피 <i>Albizzia julibrissin</i> | 9.9±1.5 |
| 119 | 익모초 <i>Leonurus sibiricus</i> | 29.4±3.2 | 159 | 해금사 <i>Lygodium japonicum</i> | 9.6±2.5 |
| 120 | 익지인 <i>Alpinia oxyphylla</i> | 16.3±2.2 | 160 | 행인 <i>Prunus armeniaca</i> | 4.3±2.3 |

| No. | Oriental herbs | Inhibition ^a (%) | No. | Oriental herbs | Inhibition ^a (%) |
|-----|--------------------------------------|-----------------------------|-----|--|-----------------------------|
| 161 | 현삼 <i>Scrophularia buergeriana</i> | 8.5±2.3 | 168 | 홍화 <i>Carthamus tinctorius</i> | 76.5±3.2 |
| 162 | 형개 <i>Schizonepeta tenuifolia</i> | 11.3±3.2 | 169 | 황금 <i>Scutellaria baicalensis</i> | 35.5±2.3 |
| 163 | 호랑가시 <i>Ilex cornuta</i> | 11.1±2.8 | 170 | 황련 <i>Coptis chinensis</i> | 59.4±2.7 |
| 164 | 호로과 <i>Trigonella foenum-graecum</i> | 3.9±1.4 | 171 | 황정 <i>Polygonatum sibiricum</i> | 31.4±2.1 |
| 165 | 호마인 <i>Sesamum orientale</i> | 21.2±2.1 | 172 | 회양목 <i>Buxus microphylla</i> var. <i>koreana</i> | 10.1±2.2 |
| 166 | 호장근 <i>Reynoutria japonica</i> | 12.4±1.2 | 173 | 후박 <i>Magnolia officinale</i> | 0.0±1.3 |
| 167 | 호초 <i>Piper nigrum</i> | 33.2±3.2 | 174 | 희렴 <i>Siegesbeckia orientalis</i> ssp. <i>glabrescens</i> | 30.9±1.3 |

^a. Four independent experiments were done to get average value of inhibitory activity of herbal extracts. Tyrosinase activity was monitored in 60mM phosphate buffer (pH 6.8) after adding the extract obtained from 0.3g of dry weight of oriental herbs using 39.44 μ g of substrate and 2.336 μ g of mushroom tyrosinase in 1 ml reaction volume. Ab₄₉₂ were measured to determine the amount of synthesized dopachrome.

비과엽이 건조중량 0.3g의 물질에서 나온 추출물을 넣었을 때 각각 94.0%, 91.5%, 85.0%, 85.0%로 매우 높은 tyrosinase저해활성을 나타내었다(Table 1). 다음으로 저해효과가 있는 생약으로는 왕불류행 76.3%, 지유 72.8%, 산조인 70.90% 등이었다. 또한, 감초 51.1%, 미후리 69.9%, 마황근 54.1%, 선인장 58.3%, 육종용 55.4%, 작약 50.1%, 황련 59.4%도 상당한 효소저해 효과를 보였다. 174종의 시료 중 14종의 시료에서 활성을 나타내었다.

적 요

한약재 174종으로부터 tyrosinase 저해제를 탐색하였다. 한약재는 30일간 methanol에 담가 놓은 후, 그 추출액을 제조하여 사용하였다. Tyrosinase의 활성을 측정하기 위해서는 효소 mushroom Tyrosinase와 기질 L-DOPA, phosphate buffer를 사용하였다. 탐색 결과, 한약재 174종 중 14개종이 tyrosinase를 저해 효과를 보였고, 그중 오배자 추출액이 inhibition activity가 가장 높게 나타났다.

참고문헌

Abdel-Malek Z., Scott M.C., Suzuki I., Tada A., Im S., Lamoreux L., Ito S., Barsh G. and Hearing V.J. 2000. The melanocortin-1 receptor is a key regulator of

human cutaneous pigmentation. *Pigment Cell Res.* 13 Suppl. 8:156-62.

Akiu S., Suzuki Y., Asahara T., Fujinuma Y. and Fukuda M. 1991. Inhibitory effect of arbutin on melanogenesis-biochemical study using cultured B16 melanoma cells. *Nippon Hifuka Gakkai Zasshi* 101:609-13.

Curto E.V., Kwong C., Hermersdorfer H., Glatt H., Santis C., Virador V., Hearing V.J.Jr. and Dooley T.P. 1999. Inhibitors of mammalian melanocyte tyrosinase: in vitro comparisons of alkyl esters of gentisic acid with other putative inhibitors. *Biochem Pharmacol.* 57:663-72.

Giacomini P.L., Imberti L., Aguzzi A., Fisher P.B., Trinchieri G. and Ferrone S. 1985. Immunochemical analysis of the modulation of human melanoma-associated antigens by DNA recombinant immune interferon. *Immunol.* 135:2887-94.

Gibbs S., Murli S., De Boer G., Mulder A., Mommaas A.M. and Ponc M. 2000. Melanosome capping of keratinocytes in pigmented reconstructed epidermis-effect of ultraviolet radiation and 3-isobutyl-1-methyl-xanthine on melanogenesis. *Pigment Cell Res.* 13:458-66.

Haas G.E. 1974. The effect of ascorbic acid and potassium ferricyanide as melanogenesis inhibitors on the development of pigmentation in Mexican axolotls. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 73:674-8.

Hearing V.J. and Jimen M. 1987. Mammalian

- tyrosinase: The critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *Int. J. Biochem.* 19:1141-7.
- Ito S., Wakamatsu K. and Ozeki H. 2000. Chemical analysis of melanins and its application to the study of the regulation of melanogenesis. *Pigment Cell Res.* 13 Suppl. 8:103-9.
- Korner A.M. and Pawelek J. 1980. Dopachrome conversion: A possible control point in melanin biosynthesis. *J. Invest. Dermatol.* 75:192-5.
- Lindquist N.G., Larsson B.S. and Stjernschantz J. 1999. Increased pigmentation of iridial melanocytes in primates induced by a prostaglandin analogue. *Exp Eye Res.* 69:431-6.
- Matsukami M. 1995. Evaluation of antimelanogenic effects. *香粧會誌* 19:14-16.
- Sawyer T.K., Hruby V.J., Darman P.S. and Hadley M.E. 1982. [half-Cys4, half-Cys10]-alpha-Melanocyte-stimulating hormone: a cyclic alpha-melanotropin exhibiting superagonist biological activity. *Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79:1751-5.
- Tomita Y., Fukushima M. and Tagama H. 1986. Stimulation of melanogenesis by cholecalciferol in cultured human melanocytes. *Tohoku J. Exp. Med.* 149:451-2.

(접수일 2001. 1. 18)

(수리일 2001. 2. 26)