

## 감태(*Ecklonia cava*)에서 분리한 Phlorotannin 성분의 Elastase 저해활성 및 Hyaluronidase 저해활성

부희정 · 함영민 · 김정미 · 이선주 · 현진원<sup>1</sup> · 이남호\*  
제주대학교 화학과, <sup>1</sup>의학과

### Elastase and Hyaluronidase Inhibition Activities of Phlorotannins Isolated from *Ecklonia cava*

Hee-Jung Bu, Young Min Ham, Jung Mee Kim, Sun-Joo Lee, Jin Won Hyun<sup>1</sup>, and Nam Ho Lee\*

Department of Chemistry, Cheju National University, Ara-1, Jeju 690-756, Korea

<sup>1</sup>Department of Medicine, Cheju National University

**Abstract** – Six phlorotannins were isolated from *Ecklonia cava*, a brown alga belonging to Alariaceae, collected offshore Jeju Island. Among the phlorotannins, dieckol showed strong elastase inhibition and hyaluronidase inhibition.

**Key words** – *Ecklonia cava*, elastase inhibition, hyaluronidase inhibition

감태(*Ecklonia cava*)는 갈조식물 다시마목(Laminariales) 미역과(Alariaceae)의 식물로 우리나라에서는 주로 제주연안 수심 10 m 내외에서 서식하고 있다. 길이는 1-2 m이며 줄기는 원기둥 모양이고 밑동은 뿌리 모양을 하고 있다. 전복 및 소라의 먹이가 되며, 알긴산을 만드는 원료로 이용되기도 한다.

본 연구실에서는 제주도 특산식물을 이용하여 기능성화장품 원료 물질을 개발하기 위하여 제주 연안 해조류를 채집하여, 친피부적 성질을 조사하는 과정에서 감태의 활성에 관심을 갖게 되었다. 본 연구에서는 감태에서 해조류 탄닌 성분을 분리하여 피부활성과 관련이 있는 elastase 저해활성 및 hyaluronidase 저해활성을 조사하였다.

Elastase는 진피 내 피부탄력을 유지하는 데 중요한 기질 단백질인 엘라스틴을 분해하는 효소이다. 또한 elastase는 다른 중요한 기질단백질인 콜라겐을 분해할 수 있는 비특이적 가수분해 효소이다. 따라서 elastase 저해제는 피부 주름을 개선하는 작용을 나타내며,<sup>1)</sup> ursolic acid 등이 elastase 저해제로 이용되고 있다.<sup>2)</sup>

히아루론산(hyaluronic acid; HA)은 결합조직의 세포외 기질에 존재하는 다당체이며, 진피에 존재한다. 고분자 HA는 대식세포의 식작용을 억제하여 염증반응을 조절하는 작용을 하고 있다. Hyaluronidase는 고분자 HA를 분해하여

저분자 HA로 변형하는 효소이다.<sup>3)</sup> 저분자 HA는 류마티스 관절염 등 염증성 질환 환자에게서 고농도로 발견된다. 따라서 항염증 치료제의 연구에서 hyaluronidase 저해제의 개발은 중요한 연구목표이다.<sup>4)</sup> 특히 아토피성 피부염 치료제 등의 연구에서 hyaluronidase 저해제는 관심을 끌고 있다.

Phlorotannin은 phloroglucinol을 기본구성단위로 하는 폴리페놀 화합물이며, 자연계에서는 해양식물, 특히 갈조류에서 발견된다. 여러 가지 갈조류에서 phlorotannin이 발견된 바 있으나, 국내에서는 감태(*E. cava*)<sup>5)</sup> 및 곰피(*E. stolonifera*)<sup>6)</sup>에서 여러 가지 phlorotannin의 존재가 분리되어 보고된 바 있다. 해조류 플로로탄닌의 활성에 관한 연구로는 혈전생성 저해활성,<sup>7)</sup> 항산화활성,<sup>8,9)</sup> 심혈관 보호효과,<sup>10)</sup> 항바이러스 활성<sup>11)</sup> 등의 결과가 발표되어 있다.

### 재료 및 방법

**시료 및 기기** – 실험에 사용된 감태는 제주도 연안에서 채집하였고, 실내에서 통풍건조한 후 분쇄기를 이용하여 분말상태로 만든 후 냉장보관하여 사용하였다. 실험에 사용된 용매는 Merck사 및 Junsei사 제품을 사용하였다. 분리용 칼럼의 충전제로는 celite(Celite 545, Celite Korea Ltd.) 및 sephadex(Sephadex LH-20, Sigma)가 사용되었다. Prep-

\*교신저자(E-mail) : namho@cheju.ac.kr  
(FAX) : 064-756-3561

HPLC는 ODS column이 장착된 LC-9104(JAI)를 사용하였다. NMR은 LA-400(400 MHz, JEOL)를 사용하였다.

**Phlorotannin의 분리정제** - 감태 건조분말 4.0 kg을 80% 메탄올 16 L에 침적하여 실온에서 24시간 동안 교반하여 침출한 후(3회 반복), 여액을 감압 농축하여 추출물 1.0 kg을 얻었다. 얻어진 추출물을 증류수(1 L)에 현탁한 후, ethyl acetate로 처리하여 유기물 층을 얻었다. 얻어진 ethyl acetate 분획을 celite column에 실은 후, 용매 별로 용출하여 diethyl ether 분획을 얻었다. 이 분획(13.9 g)을 sephadex column chromatography로 분리하여 11개의 분획을 얻었다. 칼럼 용출용매는 chloroform 및 metanol 혼합물을 2/1, 1/1, 0/1 비율로 순차적으로 조절하여 사용하였다. 이 중 화합물 **1** (660 mg), **2**(142 mg), **3**(463 mg), **4**(221 mg)를 차례대로 순수하게 분리하였다. 덜 정제된 극성 분획(8번 분획, 514 mg)으로부터 메탄올을 이동상으로 한 Prep-LC를 이용하여 화합물 **5**(160 mg) 및 **6**(30 mg)을 얻었다. 얻어진 화합물은  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$  NMR data를 문헌상 data와 비교분석하여 동정하였다.

**Phloroglucinol (1)** -  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  5.78 (s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  160.0, 95.5.

**Eckol (2)** -  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6.14 (1H, s), 5.96 (1H, d, 2.7 Hz), 5.79 (1H, d, 2.0 Hz), 5.78 (1H, d, 2.7 Hz), 5.72 (2H, d, 2.0 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  161.8, 160.1, 154.5, 147.2, 147.0, 144.2, 143.3, 138.5, 125.6, 124.8, 124.5, 99.8, 99.3, 97.6, 95.7, 95.3.

**Eckstolonol (3)** -  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  6.14 (1H, s), 6.01 (1H, d, 2.8 Hz), 6.00 (1H, d, 2.8 Hz), 5.98 (1H, d, 2.8 Hz), 5.95 (1H, d, 2.8 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  154.8, 154.4, 147.2, 147.0, 143.8, 143.5, 141.4, 139.3, 133.1, 127.9, 124.9, 124.8, 124.5, 100.0, 99.9, 98.9, 95.8, 95.7.

**Triphlorethol A (4)** -  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  6.05 (1H, d, 2.8 Hz), 6.00 (2H, m), 5.93 (1H, m), 5.89 (2H, s), 5.75 (1H, d, 2.8 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  162.4, 160.3, 156.4, 156.1, 153.7, 152.6, 152.1, 125.7, 124.6, 98.0, 97.5, 96.2, 95.4, 94.9.

**Dieckol (5)** -  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  6.15 (1H, s), 6.13 (1H, s), 6.09 (1H, d, 2.9 Hz), 6.06 (1H, d, 2.9 Hz), 6.05 (1H, d, 2.9 Hz), 5.98 (1H, d, 2.8 Hz), 5.95 (1H, d, 2.8 Hz), 5.92 (3H, m);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  161.8, 160.1, 157.8, 155.9, 154.5, 152.4, 147.3, 147.2, 147.1, 146.9, 144.3, 144.1, 143.4, 143.3, 138.6, 138.5, 126.5, 126.2, 125.6, 125.5, 124.9, 124.6, 124.5, 99.9, 99.7, 99.5, 99.4, 97.6, 96.2, 95.8, 95.7, 95.3.

**Phlorofucofuroeckol A (6)** - (400 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  6.63 (1H, s), 6.40 (1H, s), 5.97 (2H, d, 2.1 Hz), 5.94 (1H, t, 2.1 Hz), 5.92 (1H, t, 2.1 Hz), 5.88 (2H, d, 2.1 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta$  161.9, 161.8, 160.20, 160.17, 151.7, 151.2, 148.3, 148.2, 145.9, 143.9, 138.4, 135.3, 128.1, 125.0, 124.7, 122.3, 105.3, 105.2, 99.9, 99.4, 97.8, 97.6, 96.2, 95.4, 95.3.

**Elastase 저해활성 측정** - Elastase의 억제 효과는 UV/Vis 분광광도계를 이용하여 측정하였다.<sup>12)</sup> 0.2 M Tris-HCl (pH 8.0) 350  $\mu\text{l}$ 에 3.2 mM의 Succ-Ala-Ala-Ala-*p*-nitroanilide 125  $\mu\text{l}$ , sample 20  $\mu\text{l}$ 를 섞고, 1.0  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 의 Porcine Pancreatic elastase(PPE) 5  $\mu\text{l}$ 를 넣어 흔들어 섞어 25°C에서 15분간 반응시킨 후 *p*-nitroaniline의 생성량을 410 nm에서 측정한다. Elastase의 저해율은 다음 식에 따라 계산되며, IC<sub>50</sub>은 엘라스타제의 기질을 50% 저해하는데 요구되는 시료의 농도( $\mu\text{g}/\text{m}^2$ )를 표시하였다.

$$\text{Elastase inhibition (\%)} = [1 - \{(B - C)/(A - D)\}] \times 100$$

A : 시료대신 증류수 넣고 효소를 첨가하여 반응한 후의 흡광도

B : 효소를 첨가하여 반응한 후의 시료의 흡광도

C : 효소 대신 증류수를 첨가하여 반응한 후의 시료의 흡광도

D : 시료와 효소 대신 각각 증류수를 첨가해 반응한 후의 흡광도

**Hyaluronidase 저해 활성 검색** - Hyaluronidase 억제 효과는 기질로서 hyaluronic acid를 사용하여 반응시킨 후 생성된 N-acetylglucosamine의 양을 측정하였다.<sup>13)</sup> 0.1 M acetate buffer (pH 3.5)에 녹인 hyaluronidase (7,900 unit/ml)의 50  $\mu\text{l}$ 를 5개의 농도로 준비된 20  $\mu\text{l}$ 의 시험 시료 용액과 함께 혼합시킨 후 37°C 항온수조에서 20분간 배양시켰다. 대조군은 추출물 대신에 buffer을 넣고 같은 방법으로 배양하였다. 이 때 hyaluronidase의 활성을 위해 12.5 mM의 CaCl<sub>2</sub> 100  $\mu\text{l}$ 를 함께 첨가하였다. Ca<sup>2+</sup>에 의해 활성화된 hyaluronic acid (12 mg/5 ml) 250  $\mu\text{l}$ 를 첨가하여 다시 항온 수조에서 40분간 배양시켰다. 0.4 M potassium tetraborate 100  $\mu\text{l}$ 를 반응 혼합물에 첨가하여 끓는 수조에서 3분간 반응시킨 후 냉각시켰다. 여기에 dimethylaminobenzaldehyde 용액 3 ml(4 g의 *p*-dimethylaminobenzaldehyde를 350 ml의 100% acetic acid와 10 N hydrochloric acid 50 ml의 혼합액)를 반응 혼합물에 첨가한 후 37°C 항온수조에서 20분간 배양하여 분광광도계로 585 nm에서 측정하였다. Hyaluronidase 저해활성은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{Hyaluronidase Inhibition (\%)} = [(OD_c - OD_s)/OD_c] \times 100$$

여기서 OD<sub>c</sub>는 대조군의 585 nm에서의 OD이고, OD<sub>s</sub>는 시료의 585 nm에서의 OD이다.

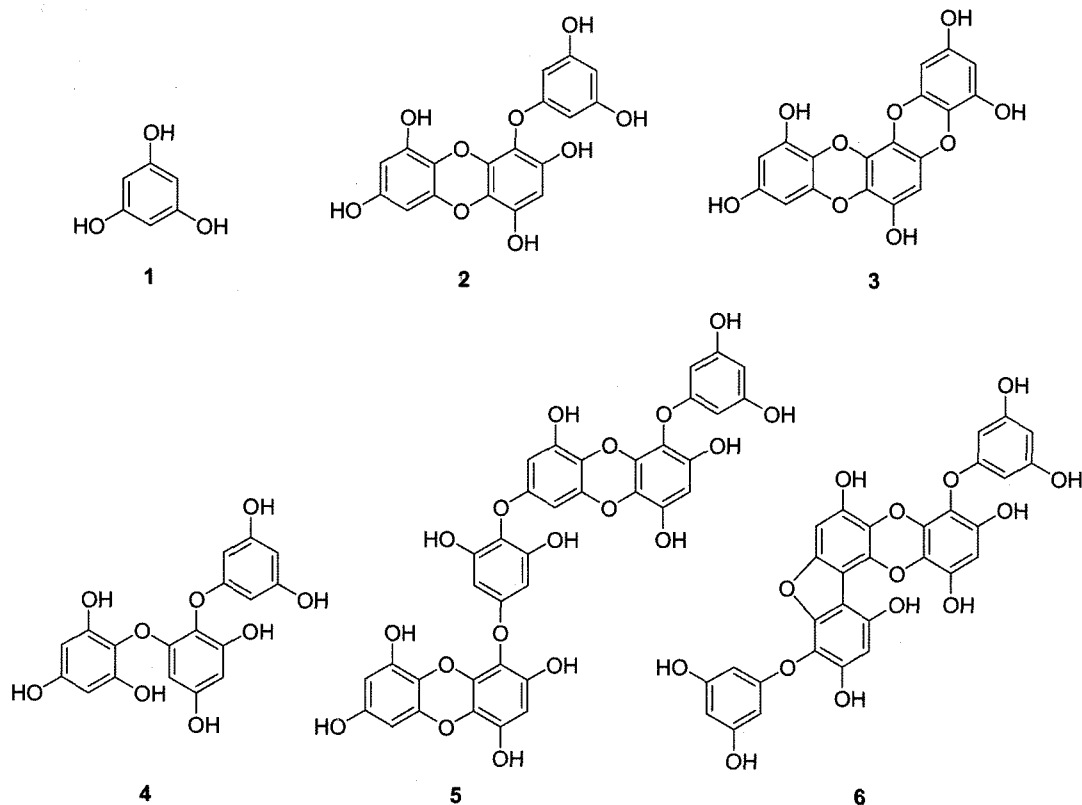


Fig. 1. 제주산 감태(*E. cava*)에서 분리한 phlorotannin 성분의 구조.

## 결과 및 고찰

**Phlorotannin의 분리정제** - 감태의 메탄올 추출물을 용매분획(hexane, ethyl acetate, butanol, water 분획)한 결과, ethyl acetate 층에서 활성을 나타내었다. Ethyl acetate 분획을 칼럼 크로마토그래피로 분리하여 화합물 1-6을 얻었다 (Fig. 1).

Phloroglucinol(1)은 대칭형의 1,3,5-trihydroxybenzene 구조를 갖고 있으며, hydroxy기의 영향으로 인하여 벤젠 고리의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼 피크가 upfield로 크게 이동되어 5.78 ppm에서 나타나고 있다.  $^{13}\text{C}$  NMR에서는 두개의 피크가 downfield로 이동한 160.0 ppm 및 upfield로 이동한 95.5 ppm에서 양분되어 나타남으로서 산소가 벤젠의 1,3,5-위치에 결합되어 있음을 알 수 있다. Phlorotannin 구조는 4차 탄소가 많은 구조를 취하고 있기 때문에,  $^1\text{H}$  보다는  $^{13}\text{C}$  NMR 피크의 형태에서 많은 정보를 얻을 수 있다. Phloroglucinol이 3분자 결합된 triphlorethol A(4)는  $^{13}\text{C}$  NMR에서 14개의 피크가 관찰됨으로서, 세 개의 벤젠 고리 중 두개가 대칭으로 존재하고 있음을 알 수 있다. 또한  $\delta_c$  152-157 ppm에서의 5개의 피크는 1,2,3,5-산소치환 벤젠 고리에서 1,3,5-위치의 벤젠 탄소에서 나타나는 피크에 해당한다. Eckol(2)에서는 16개의  $^{13}\text{C}$  NMR 피크가 관찰되었다. 이것은 triphlor-

ethol A에 비하여 벤젠 고리의 대칭성 하나가 감소되었음을 의미한다. 또한  $\delta_c$  152-157 ppm 위치의 피크가 1개로 줄어들고 138-147 ppm 위치의 피크가 새롭게 나타남으로서 고리화가 형성되어 5개의 산소가 치환된 벤젠고리가 존재함을 나타내고 있다. Eckstolonol(3)에서는 18개의  $^{13}\text{C}$  NMR 피크가 나타남으로서 대칭을 갖는 벤젠고리가 없음을 나타낸다. 1,3,5-산소 치환 벤젠에서 나타나는 160-162 ppm 피크가 사라짐으로서 대칭성 벤젠에 고리화가 형성되었음을 알 수 있다. Dieckol(5)에서는  $^{13}\text{C}$  NMR 피크의 패턴을 관찰하면 eckol이 두개 결합되어 있는 형태임을 쉽게 구별할 수 있다. Phlorofurofuceckol A(6)의 경우에도 eckol 구조가 존재하며, 두 분자의 phloroglucinol이 더 결합되어 있음을 예측할 수 있다. 이러한  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$  NMR 데이터는 문헌상의 데이터와 비교하여 기지의 화합물임을 규명할 수 있었다.<sup>6,7)</sup>

Eckol(2)은 *E. kurome*에서 처음 분리되어 anti-plasmin 저해제로 알려져 있다.<sup>7)</sup> Eckstolonol(3)은 최근 곰피(*E. stolonifera*)에서 분리되어 구조가 정밀하게 규명된 바 있다.<sup>6)</sup> 그러나 화합물 3이 감태에서 분리되어 보고된 적은 이번이 처음이다. 또한 Triphlorethol A(4)는 *E. kurome*에서 분리된 적은 있으나,<sup>7)</sup> *E. cava*에서 분리되어 보고된 적은 없다. 또한, 다른 phlorotannin과 달리 화합물 4는 활성에 대한 연구가 보

**Table I.** Elastase and hyaluronidase inhibition activities of phlorotannins isolated from *E. cava*.

Compound	Elastase inhibition activity IC <sub>50</sub> (μg/ml)	Hyaluronidase inhibition activity IC <sub>50</sub> (μg/ml)
Phloroglucinol (1)	53.0	-
Eckol (2)	43.7	36.1
Eckstolonol (3)	44.7	77.9
Triphlorethol A (4)	29.8	28.9
Dieckol (5)	14.7	14.9
Phlorofucofuroeckol A (6)	51.6	63.3
Standard	12.5 (Ursolic acid)	12.3 (DSCG)

고된 바가 거의 없다.<sup>14)</sup> Dieckol(5) 및 phlorofucofuroeckol A(6)는 비교적 큰 분자량을 지닌 eckol 유도체로서 여러 가지 활성이 비교적 잘 알려져 있는 해조류 탄닌 성분이다.

**Elastase 저해활성** - Elastase는 피부진피에 존재하며 피부의 탄력을 유지하는 엘라스틴을 분해하는 효소이다. 감태에서 분리된 시료 화합물들은 돼지췌장 엘라스타제(PLE)에 대하여 다양한 농도에서 저해 효과를 측정하여 50% 저해 농도를 Table I에 요약하였다.

Table I에서 보면, dieckol(5)의 효소 저해 활성이 14.7 μg/m로 대조군으로 사용된 ursolic acid의 저해 효과(12.5 μg/m)와 비슷한 수준으로 높게 나타났다. 나머지 화합물들 중에서는 triphlorethol A(4)의 활성도 29.8 μg/m로 비교적 높게 나타났으며, 화합물 2(43.7 μg/m), 화합물 3(44.7 μg/m), 화합물 6(51.6 μg/m), 화합물 1(53.0 μg/m) 순으로 효소 억제 효과를 나타내었다.

**Hyaluronidase 저해 활성 검색** - 감태에서 분리된 6개의 탄닌 화합물에 대하여 염증과 관련이 있는 Hyaluronidase의 저해 효과를 측정하였다. 대조군으로는 항알레르기 약물인 sodium cromoglycate(DSCG)를 사용하였으며, 각 시료는 5개의 농도를 준비해서 각각 3번씩 실험하여 평균값을 구하고, 효소 활성을 50% 저해하는 농도를 구하여 IC<sub>50</sub>으로 나타내었다.

Elastase 저해효과와 마찬가지로 고분자량 탄닌인 dieckol(5)이 IC<sub>50</sub>값 14.9 μg/m로 가장 우수한 활성을 나타내었으며, 대조군으로 사용된 DSCG의 효소 저해 활성값(12.3 μg/m)과 유사한 수치를 나타내었다. 화합물 4(28.9 μg/m), 화합물 2(36.1 μg/m), 화합물 6(63.3 μg/m), 화합물 3(77.9 μg/m) 순으로 효소 저해 활성값을 구할 수 있었다. 대황(*Eisenia bicylis*)에서 분리한 화합물 2, 5, 6에 대한 hyaluronidase 저해활성은 보고된 바 있으며, 본 실험 결과와 유사한 경향을 나타내고 있다.<sup>15)</sup>

플로로탄닌이 어떤 메카니즘으로 효소활성을 저해하며, 어떠한 이유로 dieckol에서 가장 좋은 활성이 나타나는지에 대한 대답은 명확하지 않다. 단지, 시험에 사용된 탄닌 중 dieckol이 가장 분자량이 큰 것으로 보아, 탄닌이 효소와

작용을 이루는 친화도와 관련이 있음을 추측할 수 있다. 폴리페놀 성분인 플로로탄닌이 여러 가지 단백질과 작용을 이룬다는 사실은 잘 알려져 있다.<sup>16)</sup> 일반적으로 탄닌성분은 효소들과 비선택적 침전반응을 통하여 효소활성을 저하시킬 가능성이 있으나, 본 연구에서 침전물은 관찰되지 않았다.

## 결 론

제주도에서 채집한 감태(*E. cava*)를 이용하여 6종류의 phlorotannin을 분리하였다. 본 연구에서 분리된 화합물은 모두 갈조류에서 분리된 적이 있는 물질이지만, eckstolonol(3) 및 triphlorethol A(4)는 *E. cava*에서는 처음으로 분리동정된 물질이다.

Elastase 억제효과는 분리한 6개의 compound 중 분자량이 가장 큰 dieckol(5)에서 IC<sub>50</sub> 14.7 μg/m로 대조군으로 사용된 ursolic acid(IC<sub>50</sub> 12.5 μg/m)와 유사한 효소 억제 효과를 나타내어 천연 주름 억제제로서 사용가능성을 확인할 수 있었다.

Hyaluronidase 억제효과는 dieckol(5) (IC<sub>50</sub> 14.9 μg/m)이 대조약물인 disodium cromoglycate(IC<sub>50</sub> 12.3 μg/m)과 유사한 효과를 나타내어 천연 염증억제 및 노화 억제제로서 사용 가능성을 보여주었다.

이상의 연구 결과는 감태 폴리페놀 성분의 친피부적인 효과를 나타내어 주고 있다. 따라서, 본 연구 결과는 화장품 첨가제 등 관련 분야에의 활용의 기초 자료로서 이용되리라 생각한다.

## 사 사

본 논문은 2002년도 제주대학교 학술연구비의 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Tsuji, N., Moriwaki, S., Suzuki, Y., Takemura, Y., and

- Imokawa, G. (2001) The role of elastase secreted by fibroblasts in wrinkle formation; implication through selective inhibition of elastase activity. *Photochem. and Photobiol.* **74**: 283-287.
2. 생리활성 정밀화학 기술개발 로드맵 (2002). 229-322. 산업자원부. 서울.
  3. Menzel, E.J. and Farr, C. (1998) Hyaluronidase and its substrate hyaluronan: biochemistry, biological activities and therapeutic uses. *Cancer Letters.* **131**: 3-11.
  4. Kakegawa, H., Matsumoto, H., and Satoh, T. (1992) Inhibitory effects of some natural products on the activation of hyaluronidase and their anti-allergic action. *Chem. Pharm. Bull.* **40**: 1439-1442.
  5. Kim, J.A., Lee, J.M., Shin, D.B., and Lee, N.H. (2004) The antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity of phlorotannins in *Ecklonia Cava*. *Food Sci. Biotechnol.* **13**: 476-480.
  6. Kang, H.S., Chung, H.Y., Jung, J.H., Son, B.W., and Choi, J.S. (2003) A new phlorotannin from the brown alga *Ecklonia stolonifera*. *Chem. Pharm. Bull.* **51**: 1012-1014.
  7. Fukuyama, Y., Kodama, M., Miura, I., Kinzyo, Z., Kido, M., Mori, H., Nakayama, Y., and Takahashi, M. (1989) Structure of an anti-plasmin inhibitor, eckol, isolated from the brown alga *Ecklonia kurome* OKAMURA and inhibitory activities of its derivatives on plasma plasmin inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 349-353.
  8. Nakamura, T., Nagayama, K., Uchida, K., and Tanaka, R. (1996) Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eisenia bicylis*. *Fisheries Science.* **62**: 923-926.
  9. Kang, H.S., Chung, H.Y., Kim, J.Y., Son, B.W., Jung, H.A., and Choi, J.S. (2004) Inhibitory phlorotannins from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera* on total reactive oxygen species (ROS) generation. *Arch. Pharm. Res.* **27**: 194-198.
  10. Kang, K., Park, Y., Hwang, H.J., Kim, S.H., Lee, J.G., and Shin, H.C. (2003) Antioxidative properties of brown algae polyphenolics and their perspectives as chemopreventive agents against vascular risk factors. *Arch. Pharm. Res.* **26**: 286-293.
  11. Ahn, M.J., Yoon, K.D., Min, S.Y., Lee, J.S., Kim, J.H., Kim, T.G., Kim, S.H., Kim, N.K., Huh, H., and Kim, J.W. (2004) Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and protease by phlorotannins from the brown alga *Ecklonia cava*. *Biol. Pharm. Bull.* **27**: 544-547.
  12. James, A.E.K., Timothy, D.W., and Gorden, L. (1996) Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic tyrosin inhibitors. *Biochemistry.* **35**: 9090-9096.
  13. 류재천, 박종세, 송윤선 (1990) 항알러지 및 항염증 작용의 시험관내 1차 스크리닝법. 한국과학기술연구원 도핑컨트롤센터. 한국생화학학회.
  14. Kang, K.A., Lee, K.H., Chae, S.W., Koh, Y.S., Yoo, B.S., Kim, J.H., Ham, Y.M., Baik, J.S., Lee, N.H., and Hyun, J.W. (2005) Triphlorethol-A from *Ecklonia cava* protects V79-4 lung fibroblast against hydrogen peroxide induced cell damage. *Free Radical Research* **39**: 883-892.
  15. Shibata, T., Fujimoto, K., Nagayama, K., Yamaguchi, K., and Nakamura, T. (2002) Inhibitory activity of brown algal phlorotannins against hyaluronidase. *Int. J. Food Sci. Tech.* **37**: 703-709.
  16. Stern, J.L., Hagerman, A.E., Steinberg, P.D., and Mason, P.K. (1996) Phlorotannin-protein interactions. *J. Chem. Ecology* **22**: 1877-1899.

(2006년 4월 18일 접수)