

제주 자생 식물 추출물의 항산화 및 항노화에 관한 연구(II)

김진영·양희정·이근하·전소미·안유진·원보령·박수남[†]

서울산업대학교 정밀화학과
(2007년 7월 5일 접수, 2007년 7월 13일 채택)

Antioxidative and Antiaging Effects of Jeju Native Plant Extracts (II)

Jin Young Kim, Hee Jung Yang, Keun Ha Lee, So Mi Jeon, You Jin Ahn, Bo Ryoung Won, and Soo Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, College of Nature and Life Science, Seoul National University of Technology, 172,
Gongneung 2-dong, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea
(Received July 5, 2007; Accepted July 13, 2007)

요약 선구 연구로부터 저자들은 제주 자생 식물 추출물의 항산화 및 세포보호 효과에 대한 결과의 일부를 이미 보고하였으며, 본 연구에서는 제주도에서 자생하는 나머지 37종의 식물 추출물에 대한 항산화, 미백 그리고 주름생성억제 효과를 측정하였다. 항산화 효과는 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH)을 이용한 free radical 소거 활성 측정, Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에서 생성된 활성산소종으로 인한 luminol의 화학발광을 이용한 소거 활성, 사람 적혈구를 대상으로 하여 rose-bengal로 증감된 활성산소에 대한 세포보호 효과를 측정하였다. 미백 및 주름억제 효과측정으로는 각각 tyrosinase, elastase의 활성 저해 효과를 측정하였다. 실험결과, free radical의 소거 활성(FSC₅₀)은 소귀나무 수피(*Myrica rubra*, 5 µg/mL), 광대싸리 수피(*Securinega suffruticosa*, 8 µg/mL)에서 높게 나타났고, 활성산소 소거 활성(OSC₅₀)은 상수리나무 잎(*Quercus acutissima*)과 광대싸리 수피(*Securinega suffruticosa*)에서 0.009 µg/mL로 높게 나타났으며, 세포보호 효과(τ₅₀)는 50 µg/mL에서 광대싸리 수피(*Securinega suffruticosa*, 895 min), 버드나무 줄기(*Salix koreensis*, 640 min)에서 크게 나타났다. 200 µg/mL에서 tyrosinase의 활성 저해 효과(IC₅₀)는 소귀나무 수피(*Myrica rubra*, 77.8%), elastase의 활성 저해 효과(IC₅₀)는 버드나무 줄기(*Salix koreensis*, 76.2%)에서 큰 효과가 나타났다. 결론적으로 광대싸리 수피, 소귀나무 수피, 상수리나무 잎, 버드나무 줄기, 동백나무 잎/줄기 추출물은 기능성 화장품 제조를 위한 원료로 사용하기에 충분한 가능성이 있음을 확인할 수 있었으며, 향후에 제품화를 위하여 좀 더 다양한 연구들이 필요하다고 사료된다.

Abstract: In the previous study, we reported the antioxidative and cellular protective effects of Jeju native plant extracts. In this study, we investigated the anti-oxidative, anti-wrinkle and whitening effects of new 37 plant extracts collected from self-growing plants in Jeju island. Their anti-oxidant activities were measured by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay and reactive oxygen species (ROS) scavenging assay in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system. The cyto-protective properties of 37 plant extracts were assessed in the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes. The inhibitory effect of 37 plant extracts on tyrosinase were investigated to assess their whitening efficacy. Finally, their anti-elastase activities were measured to predict the anti-wrinkle efficacy in the human skin. The results showed that the extracts of *Myrica rubra* stem bark and *Securinega suffruticosa* have the free radical scavenging activity (FSC₅₀: 5, 8 µg/mL, respectively), and the extracts of *Quercus acutissima* leaf and *Securinega suffruticosa* stem bark have the prominent ROS scavenging activity (OSC₅₀: 0.009 µg/mL). Photohemolysis of erythrocytes in the presence of rose-bengal as a sensitizer was inhibited by the extracts of *Securinega suffruticosa* stem bark and *Salix koreensis* stem (τ₅₀, 895 min, 640 min at 50 µg/mL, respectively). *Myrica rubra* stem bark extract (77.8% at 200 µg/mL) and *Salix koreensis* stem extract (76.2% at 200 µg/mL) also have the inhibitory effect on tyrosinase and elastase activities, respectively. These results indicated that the stem park of *Myrica rubra*, *Securinega suffruticosa*, and *Camellia japonica*, the stem of *Salix koreensis*, and the leaf of *Quercus acutissima* and *Camellia japonica* could have the beneficial effects when they are added as ingredients in cosmetics.

Keywords: ROS, Jeju island native plants, anti-oxidant, tyrosinase, elastase

[†] 주 저자 (e-mail: snpark@snut.ac.kr)

1. 서 론

피부는 외부의 여러 유해환경으로부터 생체를 보호하고 있는 최외곽에 존재하고 있는 보호막으로서 외부에 노출되어 있는 동시에 태양광선과 우리가 호흡할 수 있게 해 주는 공기와 항상 접촉하고 있다. 피부가 태양광선에 노출되면 피부에서는 비타민 D가 합성되어 골격 형성, 근육 및 근력 성장에 도움을 준다. 하지만 과도하게 노출될 경우 피부를 이루고 있는 세포에서는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 과량 생성된다. 활성산소종은 산소 분자보다 에너지가 크며, 불안정하여 반응성이 상당히 큰 것이 특징이다. 활성산소는 생체 내에서 생성되어 생체를 외부로부터 방어하는 역할을 하는데 공기 중에는 산소가 대략 21 % 정도 차지하고 있기 때문에 호흡을 통해 몸에 들어온 산소는 대사과정 중에서 소량 생성되어 식균작용을 하여 세균이나 곰팡이, 바이러스로부터 감염되지 않도록 한다. 하지만 과량이 존재하면 지질, 단백질, 핵산 등과 반응하려는 성질이 커서, 세포를 파괴할 뿐만 아니라 DNA 돌연변이를 유발한다. 생체 내에서는 활성산소를 소거하는 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSHPx) 등의 항산화 효소가 존재하여 산화적 손상을 막지만, 활성산소의 양이 지나치게 증가하게 되면 생체내의 장기를 공격해 각종 성인병 및 암을 유발한다. 피부에서도 마찬가지로 태양광선에 많이 노출되면 피부에서는 활성산소가 과량으로 생성되어 피부암, 염증 등을 유발한다.

여기서 말하는 활성산소종은 1O_2 (singlet oxygen) 및 $\cdot OH$ (hydroxy radical)를 비롯하여 $O_2^{\cdot -}$ (superoxide anion radical), H_2O_2 (hydrogen peroxide)가 있고, 광범위한 범위에서는 생체성분과의 반응으로 유래된 $ROO\cdot$ (peroxyl radical), $RO\cdot$ (alkoxyl radical), $ROOH$ (hydroperoxide) 및 $HOCl$ (hypochlorous acid) 등을 포함한다 [1]. 1O_2 은 수명이 짧은 특히 해로운 분자이며, 주로 광증감반응으로 피부에서 생성되고, 광노화에 있어서 핵심적 역할을 한다. 특히 1O_2 은 $\cdot OH$ 과 함께 ROS 중에서 반응성이 가장 큰 활성산소종으로 막을 통해 확산하며, 일차적으로 생체 내에 존재하는 항산화제들을 파괴시켜 항산화 방어체계를 망가뜨리는데 이러한 메카니즘으로 피부노화를 주도하는 것으로 보고되고 있다[2-4].

$O_2^{\cdot -}$ 는 SOD에 의해 소거될 수 있고, 이 과정에서 H_2O_2 로 전환된다. H_2O_2 는 catalase에 의해 물과 산소로 분해되고, 직접적으로 조직손상에 참여하는 경우는 드물지만 비교적 수명이 길고 세포막들을 쉽게 통과하며, 활성산소종을 생성시키는 화합물로서 중요하다. 또한 $O_2^{\cdot -}$ 은 Fe(III)와 같은 전이금속을 환원시킬 수 있고, 환원된 Fe(II)은 과산화수소와 반응하여 $\cdot OH$ 을 생성시킨다(Fenton 반응)[5].

$\cdot OH$ 도 1O_2 처럼 소거할 수 있는 항산화 방어효소는 존재하지 않으며, 반응성이 크다. 피부가 태양 자외선에 노출되면 노출부위에 철 수준이 증가하기 때문에[6,7], $\cdot OH$ 도 1O_2 과 함께 피부 광손상에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

또한 피부의 진피에는 수분유지 및 장력과 탄력을 부여하는 콜라겐(collagen), 엘라스틴(elastin) 및 히아루론산(hyaluronic acid)이 존재하여 표피에 영양분을 공급하여 표피를 지지하고, 피부의 다른 조직들을 유지하고 보호해주는 역할을 하고 있다[8]. 하지만 과잉의 활성산소는 단백질 절단효소인 MMPs (matrix metalloproteinases)의 발현을 유도시켜, 피부 거칠어짐, 탄력저하 등을 유발시켜 최종적으로 피부 노화를 일으킨다.

결론적으로 활성산소는 피부 항산화제 파괴, 지질 과산화반응의 개시, 단백질의 산화, DNA 산화, 결합조직 성분인 콜라겐, 엘라스틴, 히아루론산 등의 사슬 절단 및 비정상적인 교차결합에 의한 주름생성, 멜라닌 생성 과정 등에 참여하는 등 피부노화를 가속화시킨다[9]. 그러므로 이들의 제거는 피부의 광노화를 예방하고 최소화하는데 중요한 요소이다.

선구 연구로부터 저자들은 37가지 제주 자생 식물 추출물의 항산화 및 세포 보호작용에 대한 결과의 일부를 이미 보고하였으며[10], 본 연구에서는 37가지 식물들을 대상으로 DPPH, chemiluminescence, photohemolysis법을 이용하여 항산화 능력을 측정하였고, 미백 및 주름 생성에 핵심적 역할을 하고 있는 tyrosinase 및 elastase의 활성을 저해시키는 능력도 측정하여 피부노화를 방지하는데 효과가 있는 기능성화장품소재를 개발하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 기기 및 시약

본 실험에 사용한 식물 추출물은 생명공학연구원 내 한국식물추출물은행에서 구입한 제주 자생 식물 추출물 37종으로(Table 1), 이 추출물들은 메탄올(99.9 % HPLC 용)로 추출 농축한 것이다. 시약은 (+)- α -tocopherol (1,000 IU vitamin E/g), L-ascorbic acid, EDTA, luminol, heparin, 기질로 사용된 L-tyrosine, N-succinyl-(Ala)₃-p-nitroanilide, 효소로 사용된 tyrosinase (from Mushroom, 50,000 units, 12.7 mg solid, 3,960 units/mg solid), elastase (25 mg protein, 72 mL, 0.35 mg protein/mL, 7.8 units/mg protein), 증감제로 사용된 rose-bengal, free radical 소거활성에 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다. 기타 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 는 Junsei Chemical Co. 제품을, H_2O_2 는 Dae Jung Chemicals & Metals (Korea)사 제

Table 1. 37 Plant Extracts Used for Experiments

| No. | Botanical names | No. | Botanical names |
|-----|--|-----|---|
| 1 | <i>Ambrosia artemisiifolia</i> var. <i>elatior</i> (on the ground) | 20 | <i>Lonicera japonica</i> (stem) |
| 2 | <i>Aralia elata</i> (leaf) | 21 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) |
| 3 | <i>Arisaema robustum</i> (all grass) | 22 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) |
| 4 | <i>Artemisia capillaris</i> (all grass) | 23 | <i>Lycopodium obscurum</i> (all grass) |
| 5 | <i>Aster tripolium</i> (on the ground) | 24 | <i>Magnolia kobus</i> (stem bark) |
| 6 | <i>Boehmeria nivea</i> (leaf) | 25 | <i>Melia azedarach</i> var. <i>japonica</i> (leaf/flower) |
| 7 | <i>Camellia japonica</i> (leaf) | 26 | <i>Myrica rubra</i> (stem bark) |
| 8 | <i>Camellia japonica</i> (stem bark) | 27 | <i>Picrasma quassioides</i> (stem) |
| 9 | <i>Capsella bursa-pastoris</i> (all grass) | 28 | <i>Portulaca oleracea</i> (all grass) |
| 10 | <i>Commelina communis</i> (all grass) | 29 | <i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i> (all grass) |
| 11 | <i>Empetrum nigrum</i> var. <i>japonicum</i> (leaf) | 30 | <i>Pueraria thunbergiana</i> (branch/leaf) |
| 12 | <i>Eriobotrya japonica</i> (stem bark) | 31 | <i>Quercus acutissima</i> (leaf) |
| 13 | <i>Euonymus japonicus</i> (stem) | 32 | <i>Salix koreensis</i> (stem) |
| 14 | <i>Euphorbia helioscopia</i> (all grass) | 33 | <i>Securinega suffruticosa</i> (stem bark) |
| 15 | <i>Fatsia japonica</i> (stem bark) | 34 | <i>Sophora flavescens</i> (all grass) |
| 16 | <i>Galium spurium</i> (all grass) | 35 | <i>Stachys riederi</i> var. <i>japonica</i> (all grass) |
| 17 | <i>Indigofera pseudotinctoria</i> (on the ground) | 36 | <i>Typha angustata</i> (all grass) |
| 18 | <i>Juncus effusus</i> var. <i>decipiens</i> (on the ground) | 37 | <i>Vitis amurensis</i> (leaf/stem) |
| 19 | <i>Ligustrum japonicum</i> (branch) | | |

품을 사용하였다. 그리고, 에탄올, 메탄올 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다.

실험에 사용한 기기로서 UV-Visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사, centrifugal separator는 Hanil Co. Ltd (Korea)사, pH meter는 Istek (Korea)사, Incubator는 JISICO Co. (Korea)사, Spectronic 20D는 Milton Roy Co. (USA), 6-channel LB9505 LT는 Berthold (Germany)사의 제품을 사용하였다.

2.2. DPPH법을 이용한 free radical 소거 활성

37종의 제주 자생 식물 추출물에 대한 free radical 소거 활성은 유기 free radical인 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 이용하였다[11]. DPPH는 천연 항산화제의 free radical 소거능을 평가하는데 널리 사용되고 있다. 항산화제의 free radical 소거 활성의 정도는 항산화제의 수소공여능에 의존한다. 육안관찰시, 보라색을 나타내는 DPPH는 free radical 소거 활성이 뛰어난 항산화제와 반응 후 환원되어 노란색으로 변한다. 이를 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도의 변화로서 항산화제의 free radical 활성 정도를 측정하였다. 그 활성의 크기는 0.2 mM의 DPPH를 50 % 소거

하는 시료의 농도(free radical scavenging activity concentration, FSC₅₀, µg/mL)로서 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[1 - \frac{(A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}})}{A_{\text{Control}}} \right] \times 100$$

2.3. Luminol 발광법을 이용한 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에 있어서 활성산소 소거 활성

철이나 구리 같은 전이 금속은 반응성이 가장 큰 ·OH을 생성시키는 촉매로 작용한다. 본 실험에서 사용한 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계는 각종 활성산소(O₂⁻, ·OH, H₂O₂)를 생성시킨다. 따라서 이 계를 이용하면 활성산소에 대한 총항산화능을 측정할 수 있다. 이 총항산화능에는 활성산소의 생성을 막아주는 킬레이트 작용도 포함될 수 있다. 생성된 활성산소종의 검출은 luminol과의 반응을 통한 화학발광을 측정함으로써 알 수 있다[12-14]. Luminol은 질소 헤테로 고리 화합물로서 과산화수소와 반응하여 자청색의 형광빛을 띄는데 이 때 방출되는 빛을 화학발광기에서 검출하여 시료의 농도별 활성산소 소거 활성을 측정하였다. 활성산소 소거 활성의 크기는 화학발광의 세기가 50 % 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive ox-

xygen species scavenging activity concentration, OSC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)로서 표기하였다.

2.4. Photohemolysis법을 이용한 세포보호 효과

피부는 항상 태양광선에 노출되며, 특히 자외선은 피부의 노화를 일으키는 주범이다. 피부가 자외선에 노출되면 활성산소가 발생되어 각종 세포들에 대한 손상을 야기시켜 주름생성, 탄력감소 등의 광노화가 일어난다. 사람 적혈구를 대상으로 활성산소 및 free radical에 의한 세포막 파괴 실험은 피부의 광노화에 관련된 모델로 적합한 점이 많다. 이 실험에서 사용하는 광증감제인 rose-bengal은 광에 의해 $^1\text{O}_2$ 를 생성시킨다. 생성된 $^1\text{O}_2$ 는 반응성이 매우 커 빠른 속도로 생체 성분들과 반응하여 과산화물이나 free radical을 생성시켜 세포막, 단백질, DNA를 파괴시킨다. 이러한 메커니즘을 이용하여 사람에게서 얻은 혈액을 원심분리를 통하여 적혈구를 분리하여 이에 광증감제를 넣고, 광조사를 실시하여 적혈구의 용혈을 유도하였고, 광조사가 끝난 후 암반응 시간에 따른 적혈구의 파괴 정도를 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도(transmittance)로부터 구하였다. 37종의 제주자생 식물 추출물을 농도별로 넣어 적혈구의 용혈에 대한 보호 능력을 측정하였다. 식물 추출물의 광용혈에 미치는 효과는 적혈구의 50 %가 용혈되는 시간인 τ_{50} 을 구하여 비교하였다[15,16].

2.5. Tyrosinase 활성 저해

멜라닌 색소는 피부 및 모발의 색을 결정하는데 자외선에 의해 과다하게 생성된 멜라닌은 피부에 기미, 주근깨를 생성시킨다. 멜라닌은 L-tyrosine을 기질로 하여 tyrosinase가 핵심효소로 작용하여 생성되기 때문에 tyrosinase의 활성을 저해하는 능력은 피부 미백에 있어 매우 중요하다. 따라서 L-tyrosine과 tyrosinase를 37 °C의 항온기에서 배양하여 멜라닌을 생성시켜, 각각의 식물 추출물에 대한 tyrosinase의 활성 저해 능력을 측정하였으며, 이는 tyrosinase의 활성을 50 % 감소시키는데 필요한 시료의 농도(inhibition concentration, IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)로 표기하였다[17].

2.6. Elastase 활성 저해

피부에는 elastin 단백질이 존재하여 탄력을 부여한다. Elastin 단백질이 절단되면 피부에 탄력이 감소되어 주름이 생성된다. 이는 활성산소에 의한 작용과 elastin 단백질을 분해하는 효소인 elastase에 의한 결합조직 파괴가 원인이다. 따라서 elastase의 활성 저해 능력의 측정은 피부의 탄력 및 주름과 관련된 노화의 억제에 대단히 중요하다. 실험에 사용된 elastase는 N-succinyl-(Ala)₃-p-

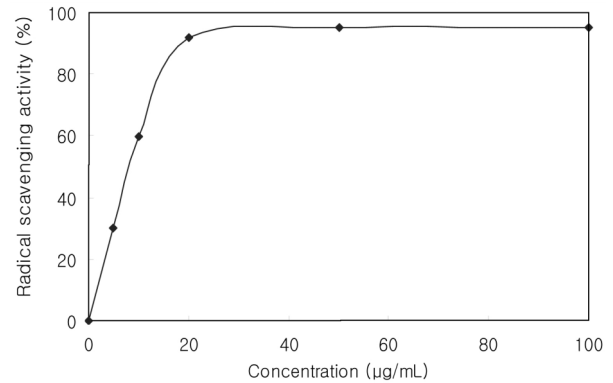


Figure 1. Free radical scavenging activity of extract of *Securinega suffruticosa* (stem bark).

nitroanilide라는 기질과의 반응으로 활성이 증가하는데 이를 50 % 감소시키는데 필요한 시료의 농도(inhibition concentration, IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)로 표기하였다[18].

3. 결 과

3.1. DPPH법을 이용한 free radical 소거 활성

본 실험에 사용한 37가지 제주자생 식물추출물의 free radical 소거 활성(FSC_{50})은 Figure 1에서의 광대싸리 수피(*Securinega suffruticosa*) 추출물의 경우에서 알 수 있듯이, 시료 농도에 따른 free radical 소거 활성 도표로부터 구하였다.

측정된 37개의 추출물에 대한 FSC_{50} 값을 Table 2에 정리하였다. 비교적 free radical 소거 활성이 큰 추출물은 소귀나무 수피(*Myrica rubra*), 광대싸리 수피(*Securinega suffruticosa*), 상수리나무 잎(*Quercus acutissima*), 동백나무 잎/수피(*Camellia japonica*), 비파나무 수피(*Eriobotrya japonica*), 광나무 가지(*Ligustrum japonicum*) 등 7가지였고, 특히 소귀나무 수피(*Myrica rubra*) 추출물은 FSC_{50} 값이 5 $\mu\text{g/mL}$ 로 free radical 소거 활성이 큰 것으로 나타났다. 비교물질로 사용한 항산화제인 L-ascorbic acid, (+)- α -tocopherol의 FSC_{50} 은 각각 4, 9 $\mu\text{g/mL}$ 이었다.

3.2. Luminol 발광법을 이용한 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에 있어서 활성산소 소거 활성

Figure 2 및 Figure 3은 luminol-화학발광법을 이용하여, 두릅나무 잎(*Aralia elata*) 추출물의 농도에 따른 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에서 생성된 두릅나무 잎(*Aralia elata*) 추출물은 0.01 $\mu\text{g/mL}$, 0.1 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도범위에서 농도-의존적으로 화학발광을 감소시켰다(Figure 2). 이로부터 활성산소종을 50 % 소거하는데 필요한 시료의 농도(OSC_{50})는 0.013 $\mu\text{g/mL}$ 로 구해

Table 2. Free Radical Scavenging Activities of 37 Jeju Native Plant Extracts

| No. | Botanical names | DPPH (FSC ₅₀ , µg/mL) |
|---------------------------|---|-------------------------------------|
| 1 | <i>Ambrosia artemisiifolia</i> var. <i>clatior</i> (on the ground) | 100 |
| 2 | <i>Aralia elata</i> (leaf) | 100 |
| 3 | <i>Arisaema robustum</i> (all grass) | 135 |
| 4 | <i>Artemisia capillaris</i> (all grass) | 60 |
| 5 | <i>Aster tripolium</i> (on the ground) | 80 |
| 6 | <i>Boehmeria nivea</i> (leaf) | 70 |
| 7 | <i>Camellia japonica</i> (leaf) | 14 |
| 8 | <i>Camellia japonica</i> (stem bark) | 18 |
| 9 | <i>Capsella bursapastoris</i> (all grass) | 380 |
| 10 | <i>Commelina communis</i> (all grass) | 360 |
| 11 | <i>Empetrum nigrum</i> var. <i>japonicum</i> (leaf) | 43 |
| 12 | <i>Eriobotrya japonica</i> (stem bark) | 18 |
| 13 | <i>Euonymus japonicus</i> (stem) | 48 |
| 14 | <i>Euphorbia helioscopia</i> (all grass) | 96 |
| 15 | <i>Fatsia japonica</i> (stem bark) | 75 |
| 16 | <i>Galium spurium</i> (all grass) | 150 |
| 17 | <i>Indigofera pseudotinctoria</i> (on the ground) | 35 |
| 18 | <i>Juncus effusus</i> var. <i>decipiens</i> (on the ground) | 70 |
| 19 | <i>Ligustrum japonicum</i> (branch) | 20 |
| 20 | <i>Lonicera japonica</i> (stem) | 64 |
| 21 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | 800 |
| 22 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | > 400 |
| 23 | <i>Lycopodium obscurum</i> (all grass) | 400 |
| 24 | <i>Magnolia kobus</i> (stem bark) | 50 |
| 25 | <i>Melia azedarach</i> var. <i>japonica</i> (leaf/flower) | > 300 |
| 26 | <i>Myrica rubra</i> (stem bark) | 5 |
| 27 | <i>Picrasma quassioides</i> (stem) | 60 |
| 28 | <i>Portulaca oleracea</i> (all grass) | 200 |
| 29 | <i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i> (all grass) | 68 |
| 30 | <i>Pueraria thunbergiana</i> (branch/leaf) | - |
| 31 | <i>Quercus acutissima</i> (leaf) | 11 |
| 32 | <i>Salix koreensis</i> (stem) | 30 |
| 33 | <i>Securinega suffruticosa</i> (stem bark) | 8 |
| 34 | <i>Sophora flavescens</i> (all grass) | 240 |
| 35 | <i>Stachys riederi</i> var. <i>japonica</i> (all grass) | 90 |
| 36 | <i>Typha angustata</i> (all grass) | 75 |
| 37 | <i>Vitis amurensis</i> (leaf/stem) | 100 |
| Standard L ascorbic acid | | 4 |
| (+)- α -Tocopherol | | 9 |

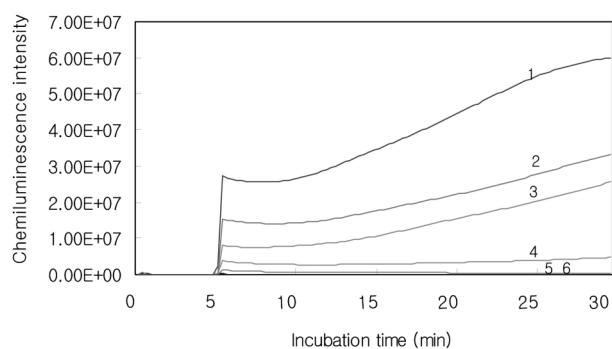


Figure 2. Reactive oxygen species scavenging activity of *Aralia elata* (leaf) in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system by luminol-dependent chemiluminescence assay. [EDTA] = 50 µM, [FeCl₃ · 6H₂O] = 25 µM, [Luminol] = 1.4 mM, [H₂O₂] = 3.0 mM, concentrations of *Aralia elata* leaf (leaf); 1: control, 2: 0.01 µg/mL, 3: 0.1 µg/mL, 4: 1 µg/mL, 5: 10 µg/mL, 6: blank.

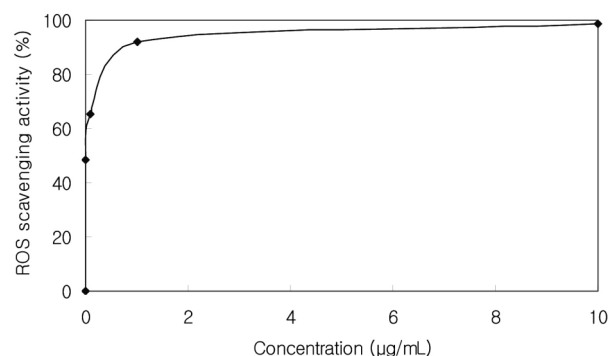


Figure 3. Reactive oxygen species scavenging activity of *Aralia elata* (leaf) in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system by luminol-dependent chemiluminescence assay.

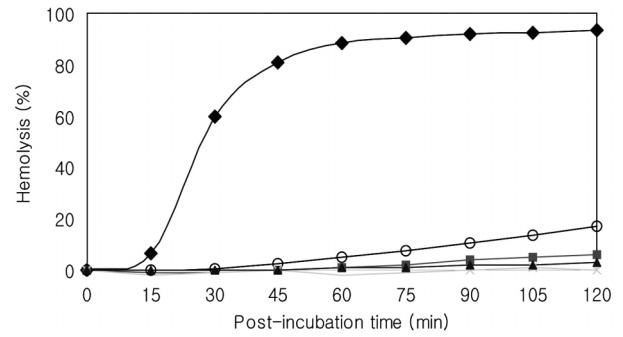
졌다(Figure 3). 이와 같은 방법으로 37종의 식물 추출물을 대상으로 실험한 결과를 Table 3에 나타내었다. 상수리나무 잎(*Quercus acutissima*), 광대싸리 수피(*Securinega suffruticosa*), 두릅나무 잎(*Aralia elata*), 사철쭉 전초(*Artemisia capillaris*), 사철나무 줄기(*Euonymus japonicus*)가 총항산화능이 큰 것으로 나타났다. 특히, 상수리나무 잎(*Quercus acutissima*), 광대싸리 수피(*Securinega suffruticosa*) 및 두릅나무 잎(*Aralia elata*)은 비교군 중 총항산화능이 큰 quercetin (OSC₅₀; 0.05 µg/mL)보다도 그 활성이 훨씬 큼을 알 수 있다.

3.3. ¹O₂으로 유도된 사람 적혈구의 용혈에 대한 세포 보호 효과

활성산소에 대한 추출물의 세포보호 효과는 광증감제인 rose-bengal 존재 하에서 사람 적혈구 현탁액에 15

Table 3. Reactive Oxygen Species Scavenging Activities of 37 Jeju Native Plant Extracts

| No. | Botanical names | Chemiluminescence (OSC ₅₀) μg/mL × 10 ⁻² |
|--------------------------|--|--|
| 1 | <i>Ambrosia artemisiifolia</i> var. <i>clatior</i> (on the ground) | 28 |
| 2 | <i>Aralia elata</i> (leaf) | 1.3 |
| 3 | <i>Arisaema robustum</i> (all grass) | 550 |
| 4 | <i>Artemisia capillaris</i> (all grass) | 4 |
| 5 | <i>Aster tripolium</i> (on the ground) | 238 |
| 6 | <i>Boehmeria nivea</i> (leaf) | 60 |
| 7 | <i>Camellia japonica</i> (leaf) | 18 |
| 8 | <i>Camellia japonica</i> (stem bark) | 10 |
| 9 | <i>Capsella bursapastoris</i> (all grass) | 70 |
| 10 | <i>Commelina communis</i> (all grass) | 70 |
| 11 | <i>Empetrum nigrum</i> var. <i>japonicum</i> (leaf) | 36 |
| 12 | <i>Eriobotrya japonica</i> (stem bark) | 800 |
| 13 | <i>Euonymus japonicus</i> (stem) | 5 |
| 14 | <i>Euphorbia helioscopia</i> (all grass) | 200 |
| 15 | <i>Fatsia japonica</i> (stem bark) | 640 |
| 16 | <i>Galium spurium</i> (all grass) | 2 |
| 17 | <i>Indigofera pseudotinctoria</i> (on the ground) | 240 |
| 18 | <i>Juncus effusus</i> var. <i>decipiens</i> (on the ground) | 20 |
| 19 | <i>Ligustrum japonicum</i> (branch) | 30 |
| 20 | <i>Lonicera japonica</i> (stem) | 700 |
| 21 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | 150 |
| 22 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | 128 |
| 23 | <i>Lycopodium obscurum</i> (all grass) | 30 |
| 24 | <i>Magnolia kobus</i> (stem bark) | 50 |
| 25 | <i>Melia azedarach</i> var. <i>japonica</i> (leaf/flower) | 108 |
| 26 | <i>Myrica rubra</i> (stem bark) | 20 |
| 27 | <i>Picrasma quassioides</i> (stem) | 20 |
| 28 | <i>Portulaca oleracea</i> (all grass) | 400 |
| 29 | <i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i> (all grass) | 5 |
| 30 | <i>Pueraria thunbergiana</i> (branch/leaf) | 10 |
| 31 | <i>Quercus acutissima</i> (leaf) | 0.9 |
| 32 | <i>Salix koreensis</i> (stem) | 30 |
| 33 | <i>Securinega suffruticosa</i> (stem bark) | 0.9 |
| 34 | <i>Sophora flavescens</i> (all grass) | 360 |
| 35 | <i>Stachys riederi</i> var. <i>japonica</i> (all grass) | 165 |
| 36 | <i>Typha angustata</i> (all grass) | 44 |
| 37 | <i>Vitis amurensis</i> (leaf/stem) | 240 |
| Standard L ascorbic acid | | 150 |
| Rutin | | 13 |
| Quercetin | | 5 |

**Figure 4.** Effect of 4 plant extracts on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes. Irradiation time: 15 min, preincubation time: 30 min, [rose-bengal] = 12 μM, concentration of extract: 50 μg/mL, ◆-◆: control, ○-○: *Camellia japonica* (leaf), □-□: *Myrica rubra* (stem bark), ▲-▲: *Salix koreensis* (stem), ×-×: *Securinega suffruticosa* (stem bark).

min 동안 광조사 후, ¹O₂ 등 활성산소로 유도된 용혈 정도를 암반응 시간에 따라 측정함으로써 구하였다. 대조군의 경우 적혈구 세포가 50 % 용혈되는데 걸리는 시간(τ₅₀)은 32 min이었다. 식물 추출물은 세포보호 효과가 클수록 τ₅₀이 크게 나타났다. ¹O₂으로 유도된 사람 적혈구의 광용혈에 대한 식물 추출물들의 세포보호 효과 측정 결과가 Figure 4에 나와 있다. 추출물의 농도 50 μg/mL에서 광대싸리 수피(*Securinega suffruticosa*), 버드나무 줄기(*Salix koreensis*), 소귀나무 수피(*Myrica rubra*), 동백나무 잎(*Camellia japonica*) 추출물이 세포보호 효과가 있음을 보여주고 있다. 37개 식물 추출물의 활성산소에 대한 세포보호 효과(τ₅₀)를 50 μg/mL에서 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. 비교 물질인 (+)-α-tocopherol의 τ₅₀은 74 min이었다.

3.4. Tyrosinase 활성 저해

멜라닌 생성에 있어서 핵심효소는 tyrosinase이다. 이 효소는 타이로신으로부터 시작되는 멜라닌 생합성 과정에서, 타이로신에서 DOPA, DOPA에서 DOPAquinone, 그리고 DHI로부터 eumelanin으로의 전환을 촉매하는데 관여한다. 따라서 tyrosinase의 활성을 억제하는 작용은 미백용 화장품원료로서 필히 갖추어야 할 항목이 되고 있다. Table 5는 37개 식물 추출물들에 대한 tyrosinase의 활성 저해 효과를 보여주고 있다. 이들 37개 추출물 중에서 4가지 즉, 소귀나무 수피(*Myrica rubra*), 고삼 전초(*Sophora flavescens*), 상수리나무 잎(*Quercus acutissima*), 인동 줄기(*Lonicera japonica*), 광대싸리 수피(*Securinega suffruticosa*)가 200 μg/mL에서 비교적 큰 저해 활성을 보여주었다. 특히 이 중에서 소귀나무 수피(*Myrica*

Table 4. Effects of 37 Jeju Native Plant Extracts and Reference Compounds on the Rose-bengal Sensitized Photohemolysis of Human Erythrocytes (Concentration: 50 µg/mL)

| No. | Botanical names | Photohemolysis τ ₅₀ (min) |
|---------------------------|--|---|
| 1 | <i>Ambrosia artemisiifolia</i> var. <i>clatior</i> (on the ground) | 165 |
| 2 | <i>Aralia elata</i> (leaf) | 45 |
| 3 | <i>Arisaema robustum</i> (all grass) | 89 |
| 4 | <i>Artemisia capillaris</i> (all grass) | 84 |
| 5 | <i>Aster tripolium</i> (on the ground) | 42 |
| 6 | <i>Boehmeria nivea</i> (leaf) | 55 |
| 7 | <i>Camellia japonica</i> (leaf) | 380 |
| 8 | <i>Camellia japonica</i> (stem bark) | 295 |
| 9 | <i>Capsella bursapastoris</i> (all grass) | 61 |
| 10 | <i>Commelina communis</i> (all grass) | 42 |
| 11 | <i>Empetrum nigrum</i> var. <i>japonicum</i> (leaf) | 148 |
| 12 | <i>Eriobotrya japonica</i> (stem bark) | 295 |
| 13 | <i>Euonymus japonicus</i> (stem) | 93 |
| 14 | <i>Euphorbia helioscopia</i> (all grass) | 7 |
| 15 | <i>Fatsia japonica</i> (stem bark) | 40 |
| 16 | <i>Galium spurium</i> (all grass) | 42 |
| 17 | <i>Indigofera pseudotinctoria</i> (on the ground) | 220 |
| 18 | <i>Juncus effusus</i> var. <i>decipiens</i> (on the ground) | 128 |
| 19 | <i>Ligustrum japonicum</i> (branch) | - |
| 20 | <i>Lonicera japonica</i> (stem) | 23 |
| 21 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | 54 |
| 22 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | 60 |
| 23 | <i>Lycopodium obscurum</i> (all grass) | 93 |
| 24 | <i>Magnolia kobus</i> (stem bark) | 56 |
| 25 | <i>Melia azedarach</i> var. <i>japonica</i> (leaf/flower) | 53 |
| 26 | <i>Myrica rubra</i> (stem bark) | 400 |
| 27 | <i>Picrasma quassioides</i> (stem) | 72 |
| 28 | <i>Portulaca oleracea</i> (all grass) | 50 |
| 29 | <i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i> (all grass) | 75 |
| 30 | <i>Pueraria thunbergiana</i> (branch/leaf) | 66 |
| 31 | <i>Quercuc acatissima</i> (leaf) | 81 |
| 32 | <i>Salix koreensis</i> (stem) | 640 |
| 33 | <i>Securinega suffruticosa</i> (stem bark) | 895 |
| 34 | <i>Sophora flavescens</i> (all grass) | 50 |
| 35 | <i>Stachys riederi</i> var. <i>japonica</i> (all grass) | 32 |
| 36 | <i>Typha angustata</i> (all grass) | 100 |
| 37 | <i>Vitis amurensis</i> (leaf/stem) | 63 |
| Standard (+)-α-Tocopherol | | 74 |
| Control | | 32 |

Table 5. Inhibitory Activities of 37 Jeju Native Plant Extracts on Tyrosinase (Concentration: 200 µg/mL)

| No. | Botanical names | Inhibition (%) |
|----------|--|----------------|
| 1 | <i>Ambrosia artemisiifolia</i> var. <i>clatior</i> (on the ground) | 20.4 |
| 2 | <i>Aralia elata</i> (leaf) | 14.1 |
| 3 | <i>Arisaema robustum</i> (all grass) | 5.7 |
| 4 | <i>Artemisia capillaris</i> (all grass) | 23.3 |
| 5 | <i>Aster tripolium</i> (on the ground) | 8.9 |
| 6 | <i>Boehmeria nivea</i> (leaf) | 6.2 |
| 7 | <i>Camellia japonica</i> (leaf) | 13.2 |
| 8 | <i>Camellia japonica</i> (stem bark) | 28.3 |
| 9 | <i>Capsella bursapastoris</i> (all grass) | 10.7 |
| 10 | <i>Commelina communis</i> (all grass) | - |
| 11 | <i>Empetrum nigrum</i> var. <i>japonicum</i> (leaf) | 37.2 |
| 12 | <i>Eriobotrya japonica</i> (stem bark) | 10.4 |
| 13 | <i>Euonymus japonicus</i> (stem) | 19.1 |
| 14 | <i>Euphorbia helioscopia</i> (all grass) | 18.6 |
| 15 | <i>Fatsia japonica</i> (stem bark) | 16.9 |
| 16 | <i>Galium spurium</i> (all grass) | 9.8 |
| 17 | <i>Indigofera pseudotinctoria</i> (on the ground) | 16.1 |
| 18 | <i>Juncus effusus</i> var. <i>decipiens</i> (on the ground) | 16.8 |
| 19 | <i>Ligustrum japonicum</i> (branch) | - |
| 20 | <i>Lonicera japonica</i> (stem) | 50.7 |
| 21 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | 0.2 |
| 22 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | 10.4 |
| 23 | <i>Lycopodium obscurum</i> (all grass) | 6.7 |
| 24 | <i>Magnolia kobus</i> (stem bark) | 16.1 |
| 25 | <i>Melia azedarach</i> var. <i>japonica</i> (leaf/flower) | 12.7 |
| 26 | <i>Myrica rubra</i> (stem bark) | 77.8 |
| 27 | <i>Picrasma quassioides</i> (stem) | - |
| 28 | <i>Portulaca oleracea</i> (all grass) | 1.7 |
| 29 | <i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i> (all grass) | 4.4 |
| 30 | <i>Pueraria thunbergiana</i> (branch/leaf) | 9.3 |
| 31 | <i>Quercuc acatissima</i> (leaf) | 52.2 |
| 32 | <i>Salix koreensis</i> (stem) | 22.6 |
| 33 | <i>Securinega suffruticosa</i> (stem bark) | 47.7 |
| 34 | <i>Sophora flavescens</i> (all grass) | 54.4 |
| 35 | <i>Stachys riederi</i> var. <i>japonica</i> (all grass) | 1.2 |
| 36 | <i>Typha angustata</i> (all grass) | 28.2 |
| 37 | <i>Vitis amurensis</i> (leaf/stem) | 8.6 |
| Standard | Arbutin (100 µg/mL) | 20.0 |
| | Arbutin (200 µg/mL) | 70.0 |

rubra)는 tyrosinase 활성 저해 효과가 77.8 %로 상당히 크게 나타났다. 하지만, 닭의 장풀 전초(*Commelina communis*), 팥나무 가지(*Ligustrum japonicum*), 소태

Table 6. Inhibitory Activity of 37 Jeju Native Plant Extracts on Elastase (Concentration: 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

| No. | Botanical names | Inhibition (%) |
|----------|--|----------------|
| 1 | <i>Ambrosia artemisiifolia</i> var. <i>clatior</i> (on the ground) | 34.3 |
| 2 | <i>Aralia elata</i> (leaf) | 13.4 |
| 3 | <i>Arisaema robustum</i> (all grass) | 22.7 |
| 4 | <i>Artemisia capillaris</i> (all grass) | 5.7 |
| 5 | <i>Aster tripolium</i> (on the ground) | 31.0 |
| 6 | <i>Boehmeria nivea</i> (leaf) | 24.4 |
| 7 | <i>Camellia japonica</i> (leaf) | - |
| 8 | <i>Camellia japonica</i> (stem bark) | - |
| 9 | <i>Capsella bursapastoris</i> (all grass) | 36.8 |
| 10 | <i>Commelina communis</i> (all grass) | - |
| 11 | <i>Empetrum nigrum</i> var. <i>japonicum</i> (leaf) | 38.7 |
| 12 | <i>Eriobotrya japonica</i> (stem bark) | 38.5 |
| 13 | <i>Euonymus japonicus</i> (stem) | 17.1 |
| 14 | <i>Euphorbia helioscopia</i> (all grass) | 22.1 |
| 15 | <i>Fatsia japonica</i> (stem bark) | - |
| 16 | <i>Galium spurium</i> (all grass) | 38.6 |
| 17 | <i>Indigofera pseudotinctoria</i> (on the ground) | 53.8 |
| 18 | <i>Juncus effusus</i> var. <i>decipiens</i> (on the ground) | 34.5 |
| 19 | <i>Ligustrum japonicum</i> (branch) | - |
| 20 | <i>Lonicera japonica</i> (stem) | 6.2 |
| 21 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | 31.6 |
| 22 | <i>Lycopodium clavatum</i> var. <i>nipponicum</i> (all grass) | 35.7 |
| 23 | <i>Lycopodium obscurum</i> (all grass) | 13.6 |
| 24 | <i>Magnolia kobus</i> (stem bark) | - |
| 25 | <i>Melia azedarach</i> var. <i>japonica</i> (leaf/flower) | 24.6 |
| 26 | <i>Myrica rubra</i> (stem bark) | 45.3 |
| 27 | <i>Picrasma quassioides</i> (stem) | 30.9 |
| 28 | <i>Portulaca oleracea</i> (all grass) | 16.8 |
| 29 | <i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i> (all grass) | 52.9 |
| 30 | <i>Pueraria thunbergiana</i> (branch/leaf) | 24.9 |
| 31 | <i>Quercus acatissima</i> (leaf) | 40.5 |
| 32 | <i>Salix koreensis</i> (stem) | 76.2 |
| 33 | <i>Securinega suffruticosa</i> (stem bark) | 32.8 |
| 34 | <i>Sophora flavescens</i> (all grass) | - |
| 35 | <i>Stachys riederi</i> var. <i>japonica</i> (all grass) | 36.5 |
| 36 | <i>Typha angustata</i> (all grass) | 58.9 |
| 37 | <i>Vitis amurensis</i> (leaf/stem) | 62.7 |
| Standard | <i>Areca catechu</i> | 84.0 |

나무 줄기(*Picrasma quassioides*)에서는 효과가 전혀 나타나지 않았다. 기능성화장품의 미백제로 잘 알려진 arbutin

의 경우, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 및 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 각각 20.0 % 및 70.0 %의 저해 효과를 나타내었다.

3.5. Elastase 활성 저해

Table 6은 37개의 식물 추출물들에 대한 elastase의 활성 저해 효과를 보여주고 있다. 결과를 보면 버드나무 줄기(*Salix koreensis*), 왕머루 잎/줄기(*Vitis amurensis*), 애기부들 전초(*Typha angustata*), 남아초 지상부(*Indigofera pseudotinctoria*), 꿀풀 전초(*Prunella vulgaris* var. *lilacina*)가 다른 추출물에 비해 효과가 크게 나타났음을 알 수 있다. 특히 버드나무 줄기(*Salix koreensis*) 추출물은 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 76.2 %의 elastase 저해 활성을 나타내었다.

기능성화장품의 주름개선 성분으로 잘 알려진 민낭자(*Areca catechu*) 추출물을 비교 물질로 사용한 경우, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 elastase 저해 활성은 약 84.0 %를 나타내었다.

4. 결 론

제주도에서 자생하고 있는 37종의 식물 추출물에 대해 항산화 활성, 미백 및 주름 관련 효소의 활성에 대한 저해 능력을 측정하였다.

1) 식물 추출물의 free radical 소거 활성(FSC₅₀) 측정 결과, 비교적 소거 활성이 큰 추출물로는 소귀나무 수피, 광대싸리 수피, 상수리나무 잎, 동백나무 잎/수피, 비파나무, 팥나무 가지가 있었고, 특히, 소귀나무 수피 추출물은 FSC₅₀값이 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 free radical 소거 활성이 큰 것으로 나타났다.

2) Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계를 이용한 총항산화능 측정결과 상수리나무 잎, 광대싸리 수피, 두릅나무 잎, 사철쭉 전초, 사철나무 줄기가 총항산화능이 큰 것으로 나타났다. 특히, 광대싸리 수피는 비교군으로 사용한 quercetin의 OSC₅₀값이 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에 비해 활성산소를 소거할 수 있는 능력이 훨씬 뛰어난 것을 알 수 있었다.

3) 사람 적혈구를 대상으로 한 활성산소에 대한 세포보호 효과 측정결과, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 광대싸리 수피, 버드나무 줄기, 소귀나무 수피, 동백나무 잎 추출물이 세포보호 효과가 큼을 보여주고 있다.

4) Tyrosinase의 활성에 대한 저해 효과는 소귀나무 수피, 고삼 전초, 상수리나무 잎, 인동 줄기, 광대싸리 수피 추출물이 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 40 % 이상의 저해 효과를 보여 주었다. 특히, 이 중에서 소귀나무 수피 추출물이 77.8 %로 효과가 상당히 큰 것으로 나타났다. 기능성화장품의 미백제로 잘 알려진 arbutin을 비교 물질로 사용한 경우, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 70 %를 나타내었다.

5) Elastase의 경우는 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 버드나무 줄기,

왕머루 잎/줄기, 애기부들 전초, 남아초 지상부, 꿀풀 전초 순서로 다른 추출물에 비해 큰 저해 효과가 있음을 알 수 있었다. 특히 버드나무 줄기 추출물은 78 %로 나타났다.

결과를 종합해 보면, 광대싸리 및 소귀나무 수피, 상수리나무 잎, 버드나무 줄기 및 동백나무 잎/수피가 전반적으로 항산화 및 미백에 뛰어난 효과가 있을 것으로 사료된다.

상기의 5종의 식물 추출물을 대상으로 화장품 원료로의 가능성을 검토하고, 성분 분리, 활성 검색, 안전성 실험, 제형연구 등을 통하여 기능성화장품 개발에 응용할 수 있도록 연구를 수행할 예정이다

감 사

본 연구 논문은 산업자원부 “2005년도 제주생물자원공동연구개발사업”에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며, 지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. C. Garrel and M. Fontecave, Analysis of free radicals in biological systems, eds. A. E. Favier, J. Cadet, B. Kalyanaraman, M. Fontecave, and J. L. Pierre, 21, Birkhäuser-Verlag, Basel (1995).
2. N. Hogg, Analysis of free radicals in biological systems, eds. A. E. Favier, J. Cadet, B. Kalyanaraman, M. Fontecave, and J. L. Pierre, 21, Birkhäuser-Verlag, Basel (1995).
3. J. L. Pierre, Analysis of free radicals in biological systems, eds. A. E. Favier, J. Cadet, B. Kalyanaraman, M. Fontecave and J. L. Pierre, 21, Birkhäuser-Verlag, Basel (1995).
4. G. W. Burton and K. U. Ingold, Vitamin E: application of the principles of physics organic chemistry to the exploration of its structure and function, *Acc. Chem. Res.*, **19**, 194 (1986).
5. K. Scharffetter-Kochanek, Photoaging of the connective tissue of skin: its prevention and therapy, antioxidants in disease mechanism and therapy, *Advances in Pharmacology*, **38**, 639 (1997).
6. D. L. Bissett, R. Chatterjee, and D. P. Hannon, Chronic ultraviolet radiation-induced increase in skin iron and the photoprotective effect of topically applied iron chelators, *Photochem. Photobiol.*, **54**, 215 (1991).
7. D. L. Bissett and J. F. McBride, Iron content of human epidermis from sun-exposed and non-exposed body sites, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **43**, 215 (1992).
8. J. S. Go, B. J. Ha, S. J. Kang, H. J. Go, and K. J. Jang, *Dermatology*, **22**, SooMoondang, Seoul (2000).
9. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **23**(1), 75 (1997).
10. J. W. Choi, S. I. Kim, S. M. Jeon, J. Y. Kim, H. J. Yang, K. H. Lee, and S. N. Park, Antioxidative and cellular protective effects of Jeju native plant extracts against reactive oxygen species (I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **32**(3), 181 (2006).
11. Y. Fujita, I. Uehara, Y. Morimoto, M. Nakashima, T. Hatano, and T. Okuda, Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids, *Yakugaku Zasshi.*, **108**(2), 129 (1988).
12. O. I. Aruoma, B. Halliwell, E. Gajewski, and M. Dizdaroglu, Damage to the bases in DNA induced by hydrogen peroxide and ferric ion chelates, *J. Biol. Chem.*, **264**(34), 20509 (1989).
13. V. S. Sharov, V. A. Kazamanov, and Y. A. Vladimirov, Selective sensitization of chemiluminescence resulted from lipid and oxygen radical reactions, *Free Rad. Bio. Med.*, **7**, 237 (1989).
14. M. E. Murphy and H. Sies, Visible-range low-level chemiluminescence in biological systems, eds. L. Packer and A. N. Glazer, 595, Academic Press (1993).
15. S. N. Park, Effects of flavonoids and other phenolic compounds on reactive oxygen mediated biotechnical reactions, Ph. D. Dissertation, Seoul National Univ., Seoul, Korea (1989).
16. S. N. Park, S. W. Choi, Y. C. Boo, C. K. Kim, and T. Y. Lee, Effects of flavonoids of ginseng leaves on erythrocyte membranes against singlet oxygen caused damage, *Korean J. Ginseng Sci.*, **14**(2), 191 (1990).
17. A. Vanni, Kinetic investigations on the double enzymatic activity of the tyrosinase mushroom, *Annali di Chimica*, **80**, 35 (1990).
18. N. Erdemoglu, B. Sener, and S. Ide, Structural features of two taxoids from *Taxus baccata* L. growing in Turkey, *J. Mol. Struct.*, **559**, 227 (2001).