

열처리에 의한 황금(*Scutellaria baicalensis*) 추출물의 생리활성 변화

최명락 · 이진승 · 임현수*

전남대학교 생명산업공학전공

Received August 10, 2007 / Accepted October 8, 2007

Changes in Physiological Activities of *Scutellariae baicalensis* by Heating. Myeong Rak Choi, Jin Seung Lee and Hyun Soo Lim*. *Department of Biotechnology, Chonnam National University, San 96-1, Dundeok-dong, Yeosu, Jeonnam 550-749, Korea* - To elucidate the changes in physiological activities of *Scutellariae baicalensis* by heating, composition analysis with HPLC and evaluation of physiological activities of extracts were conducted. HPLC analysis of CW(water extract at room temperature) and CHW(heat treated CW) indicated that two distinctive peaks in the HPLC chromatogram were disappeared after boiling and additional peak was newly observed. This observation suggested that certain chemical changed in the extract occurred by heat treatment. In the estimation of physiological activities, CW showed higher ACE inhibiting activity than CHW. In the case of cytotoxic activity against cancer cells, CW exhibited higher activity than CHW against CCL-185. On the other hand, CHW showed higher activity than CW against HeLa, SNU-601 and HepG2. In addition, CHW showed the inhibitory effect on melanogenesis (80% inhibition) while CW did not show any activity.

Key words – *Scutellariae baicalensis*, peak analysis, antioxidative activity, cytotoxic activity, melanogenesis

서 론

황금(학명: *Scutellaria baicalensis*)은 중국 원산으로 한국, 중국, 몽골 및 시베리아 동부지역에 분포하며 산지의 풀밭에서 자라는데 지금은 흔히 재배하고 있다. 쌍떡잎식물 통화 식물목 꿀풀과에 속하는 여러해살이풀로 높이는 20-60 cm에 달한다. 뿌리를 약용하며, 자금(子芩), 조금(條芩), 편금(片芩) 등으로도 불린다. 그 맛은 쓰고, 성질은 차갑고 무독성이며, 청열 조습(淸熱 燥濕), 사화 해독(瀉火 解毒), 지혈(止血), 안태(安胎)의 효능을 가지고 있다[12]. 황금의 국내 주산지는 전남 여수이고, 전국 총생산의 90%가량을 차지하는 지역 특산물이다.

황금의 뿌리에는 baicalin, baicalein, neobaicalein, wogonin, wogonoside, hispidulin 등의 플라보노이드류가 다량 함유되어 있다. 이들 성분 중 당을 함유하고 있는 것은 가수분해가 쉽게 이루어진다. 바이칼린(5,6-dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H-1-benzopyran-7-yl β -d-glucopyranosiduronic acid)은 황금에 함유되어 있는 플라보노이드의 일종으로 해열작용, 이노작용, 항균작용, 항진균작용, 항바이러스작용, 담즙분비 촉진 작용, 위액분비 억제작용, 진정작용, 혈압강화작용 및 죽상동맥경화 방지작용 등 황금엑스의 약리작용이 보고되었으며, 유효성분은 주로 바이칼린에 기인한 것으로 알려져 있다[21]. 황금은 한방에서 주로 황련해

독탕, 삼황사심탕, 반하사심탕, 감초사심탕, 생강사심탕 및 황금탕으로 처방되어 토혈, 비혈, 안저 출혈, 불면증, 신경통, 고혈압, 피부소양증, 피부질환, 숙취, 구내염, 혈뇨, 하혈, 열성질환, 변비, 정신불안, 위염, 위하수, 급만성 위장염 및 하리(下痢) 등의 치료에 폭넓게 사용되고 있다[21].

황금의 물 추출액은 혈압강화작용이 뚜렷하지 않으나, 알콜 추출액은 동맥압을 내리고 진정작용을 하며 신경성 고혈압에 효과가 있다. 황금의 열수추출물을 이용하여 *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 항균활성을 검토한 결과[4,10], 생육이 억제되는 유효저해농도가 1,000 ppm으로 높았고, 세포의 형태관찰에서 균주의 세포막기능 파괴로 세포 내용물의 용출됨이 확인되었다. 황금의 에탄올 추출 및 열 건조한 고형분을 이용하여 젖산균 증식 및 김치숙성에 미치는 영향에 대하여 연구한 결과[18] 김치의 유산균 중의 하나인 *Leu. mesenteroides*에 항균활성을 보였고, 이로 인한 김치의 숙성기간이 연장됨을 확인하였다. HPLC를 이용하여 황금 성분의 정성 및 정량 분석에 관한 연구를 한 결과[20], 황금의 주성분인 baicalin, baicalein, wogonin 등의 분석 조건을 최적화되었다. 이외 대부분의 연구는 한약재로서의 처방에 관한 것으로 주로 에탄올 추출에 의한 약재 처방이다.

선행연구들을 살펴보면 가수분해에 의한 주요성분의 변화에 대한 연구가 미진하고, 열수 및 에탄올 추출에 의한 연구는 있으나, 이로 인한 원래 성분들의 변화에 대한 연구가 없으며, 에탄올 추출물과 열수추출물의 연구결과(항균)가 상이하였다. 한약재의 경우 에탄올 추출물을 이용하나 선행연구에서 열수추출물에 대한 생리활성 평가가 많았다.

*Corresponding author

Tel : +82-61-659-3306, Fax : +82-61-659-3309

E-mail : limbplab@chonnam.ac.kr

따라서, 본 연구에서는 우선적으로 가열에 의한 주요성분의 변화와 이로 인한 생리활성의 변화를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

효소, 시약 및 세포주

실험에 사용한 황금은 전남 여수 울촌산으로 여수시 동인당 한약국에서 구입하여 사용하였다. 시약은 1급 및 특급시약으로 HPLC 분석과 관련하여 acetonitrile을, 항산화활성 측정을 위한 DPPH (α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl)와 L-ascorbic acid를 Sigma Inc. (USA)에서 구입하여 사용하였다. 항암활성 측정에 관련하여 인간간암 (HepG2), 후두암 (HeLa), 위암 (SNU 601) 세포는 서울대병원에서 분양받았으며, 폐암세포 (CCL-185)는 ATCC에서, 멜라닌 생성저해와 관련하여 human melanoma cell (HTB 67)을 ATCC에서 분양받아 사용하였다. ACE 저해활성 측정용 시약으로는 Angiotensin Converting Enzyme (ACE, peptidyl dipeptide hydrolase, EC 3.4.15.1), Hippuryl-His-Leu 등은 Sigma Inc. (USA)에서 구입하여 사용하였다.

시료추출

열처리 전후 물질의 변화와 기능성을 살펴보기 위하여 황금을 분말로 만든 후 상온수 추출을 하였다. 황금 분말 10 g에 증류수 150 ml을 넣고 하루 동안 침출한 후 Whatman NO. 4 여과지로 여과하여 여과액을 동결 건조하여 열처리 전 시료로서 보관하였다(CW). 이 때 수율은 5.7%로서 일반 열수 추출법과 메탄올 추출 보다 낮은 농도이나 본 실험의 목적인 열처리 전의 시료로는 충분한 양이었다. 이 열처리하지 않은 건조시료(CW)를 10 mg/ml로 용해한 후, 60°C에서 2시간, 80°C에서 1시간, 100°C에서 30분 가열하여 열처리한 시료(CHW)를 준비하였다.

HPLC 분석방법

황금을 상온수로 추출한 후 건조된 시료를 증류수로 녹여 열처리하여 HPLC 분석을 통한 열처리 전후의 Peak 분석과 생리활성을 검토하였다. 주요변화를 생리활성 기준으로 판별한 후 HPLC로 상이점을 분석하고 기존의 황금 주요성분과 비교 판별하였다. HPLC는 Shimadzu 10A를 사용하였고, column은 Shim-pack CLC-ODS (M, 250x4.6 mm), Detector는 UV/VIS (228 nm), flow rate는 1 ml/min이었고, 이동상은 acetonitrile 과 0.1 M KH₂PO₄(pH 4.3)의 비율을 15 : 85로 하였다. 그리고, oven 온도는 40°C, injection volume은 10 μ l 이었다.

항산화 활성(수소 공여능) 측정

DPPH는 안정한 free radical로 cystein, glutathion, 함황아미노산, ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy aromatic compounds, aromatic amine 등에 의해 환원되어 짙은 자색

이 탈색되어 수소 공여제, 또는 유리기 소거 작용의 항산화활성을 측정하는데 널리 이용된다[2]. 따라서 본 연구에서는 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) 16 mg을 100 ml에 탄올에 녹인 후 100 ml 증류수를 혼합하여 Whatmann filter paper No.2로 여과하였다. 이 여액 5 ml에 조제된 시료 1 ml을 혼합한 후 528 nm에서 흡광도의 감소를 측정하였다. 대조군은 L-ascorbic acid (0.1 mg/ml)를 사용하였다.

항고혈압 활성(ACE 저해활성) 측정

ACE 저해활성의 측정은 Cushman과 Cheung의 방법을 변형하여 측정하였다[5]. ACE (Angiotensin Converting Enzyme, peptidyl dipeptide hydrolase, EC3.4.15.1) 0.38 mg을 300 mM Sodium chloride를 포함한 50 mM HEPES HCl Buffer (pH 8.3) 3 ml에 용해시켰으며, 기질인 Hippuryl-His-Leu (HHL)은 300 mM Sodium chloride를 포함한 50 mM HEPES HCl Buffer (pH 8.3)에 용해시켜 0.3%의 HHL 기질용액을 만들었다. 황금추출물 시료는 0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml, 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml로 제조하여 시료 50 μ l에 0.3%-HHL 기질용액 200 μ l를 첨가하여 37°C에서 10분간 preincubation시켰다. 반응액에 ACE용액 50 μ l를 첨가한 후 37°C에서 15분 반응시켰다. 반응이 끝나면 1M HCl 250 μ l를 첨가하여 반응을 정지시키고 ethyl acetate 2,000 μ l를 가하여 60초간 강하게 shake한 다음 3,000 rpm에서 2분간 원심분리시켜 상정액 1 ml을 취하였다. 이 상정액을 140°C에서 10분간 건조 후 3차 증류수 3 ml을 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정한 후 계산식 [Inhibiting ratio(%)=(C-S/C-S) \times 100]에 따라 ACE 저해율을 나타내었다. 앞의 식에서 S는 Sample의 흡광도이고, C는 Control(sample 대신 증류수를 넣은 군)의 흡광도이며, S는 Sample 대조군(HCl에 의한 반응 정지 후 효소를 넣은 군)의 흡광도를 나타낸 것이다.

항암활성 측정

인간 세포주를 이용한 항암활성의 평가는 천연물 및 식품의 추출물에 대하여 널리 이용되고 있으며[3,13,14], 본 연구에서는 직접계수법으로 세포수를 평가하였다. 암세포로는 HepG2, HeLa, SNU 601 및 폐암세포 (CCL-185, ATCC)를 10% FBS, 5% CO₂ incubator, 37°C 조건으로 DME배지 (DMEM : Dulbecco's Modified Eagle's Medium)에서 배양한 후, 적정농도의 세포를 T-flask에 부착 후 농도별로 조제된 시료를 첨가하여 이틀 후 trypsinization하여, 역상현미경을 이용하여 haemocytometer로 세포수를 측정하였다.

미백효과(Tyrosinase 저해활성) 측정

천연물의 미백효과를 관찰하기 위하여 tyrosinase활성저해를 측정하는 방법을 많이 사용하고 있다[7,17]. Tyrosine을 기질로 이용한 tyrosinase 효소 활성의 저해는 Ishihara 등[9]

의 방법으로 변형시켜 실험하였다. Test tube 에 0.1M sodium phosphate buffer (pH6.8) 0.8 ml, 1.5 mM Tyrosine solution 0.8 ml, 시료용액 0.4 ml의 혼합 액에 효소액 (200 units/ml) 0.2 ml를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시켜 475 nm에서 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정 한 후 계산식 {저해율(%)=[1-(S-B)/C]×100}에 따라 tyrosinase 효소활성 저해율을 구하였으며, 각 반응은 2회 측정 하였다. 앞의 식에서 S는 시료 첨가 반응, B는 효소가 없는 반응, C는 시료가 없는 반응을 나타낸 것이다.

Melanin 생성 저해활성 측정

근래 세포배양를 이용한 천연물의 melanin 색소 침착 저해효과에 대한 연구가 많이 진행되고 있다[19]. Melanin은 표피 기저층에 존재하는 melanocyte의 세포내 melanosome에서 tyrosinase 효소의 연속적 산화반응으로 생합성 되어진다. Tyrosinase (E.C.1.14.18.1)은 melanine 생합성 과정의 key enzyme으로 페놀화합물을 기질로 이용하는 구리 함유 효소이다[6]. Tyrosine은 tyrosinase에 의하여 L-3,4 dihydroxyl-L-phenylalanine(L-DOPA)로, L-DOPA를 dopaquinone으로 산화가 되고 이것이 다시 5,6-dihydroxy indole, indole 5,6-quinone으로 산화되어 최종적으로 중합에 의해 melanine이 생합성 된다[15]. 현재 의약계나 화장품 업계에서는 melanine 과잉 생성을 억제하기 위해 많은 연구가 이루어지고 있으며, 지금까지 알려진 tyrosinase의 저해제로 hydroquinone, 4-hydroxyanisole, ascorbic acid, kojic acid, azelaic acid 등이 있으나, 피부 안정성, 제형 안정성 등의 문제로 제한된 양만 사용되고 있다[1,8,11,16].

Melanin 생성 저해활성을 측정하기 위하여 먼저 ATCC에서 분양받은 human melanoma cell (HTB 67, ATCC)을 10% FBS, 1% antibiotics를 첨가한 DMEM에서 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 이 melanoma Cell을 1.0×10⁵ cells/ml의 농도로 10% FBS를 포함하는 DMEM에 현탁 하였다. 이 현탁 세포 (1 ml)를 Tissue culture flask에 넣은 후 검정 시료를 최종 10 ug/ml이 되게 첨가 한 후 5% CO₂ 조건으로 37°C에서 5일간 배양한 후 원심분리 (1,500 rpm)하였으며 phosphate buffered saline (PBS)으로 2회 세척하였다. 다시 이 세포를 corning tube에 1×10⁶ 세포수당 1 N NaOH용액 1 ml을 넣어 세포를 녹인 다음, UV spectrophotometer를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하여 계산식 [Inhibition of melanogenesis(%)= [1-(ABS 490 nm Sample/ ABS 490 nm Control)]×100]에 따라 melanogenesis 저해율을 구하였다.

결과 및 고찰

HPLC를 이용한 Peak 분석

황금의 대표적인 기능성 물질인 baicalin과 baicalein (300

µg/ml)을 표준물질로 하고, 이들 개개의 retention time을 살펴본 결과, baicalin은RT가 18.6분으로 나타났고, baicalein은 RT가 67.6분으로 나타났다.

또한, 황금 상온수 추출물의 열처리 전후의 기능성을 살펴 보기 전에 각 온도별로 처리된 시료 (각각 5 mg/ml)의 HPLC분석을 행하였다. 이때, 60°C와 80°C의 peak들은 열처리 전 (CW)과 동일하였고, 100°C의 peak가 열처리 전과 달리 나타나 이를 약칭으로 CHW라 하였다. 열처리 전 (I)의 시료와 열처리 후 (II)의 시료간의 peak분석에서 각 시료의 농도는 5 mg/ml으로 하였다. Fig. 1에서 살펴보면, 기준 시료인 열처리 전 시료 (CW)와 이 시료를 열처리한 시료 (CHW)의 비교시 양 쪽 모두 약 18 분에서 baicalin으로 보이는 표준 물질이 낮은 농도로 나타남을 알 수 있고, 이는 열처리 없이 추출 한 결과로 보인다. 또한, 열처리 전 시료에서 A와 B가 없어지고, 열처리 후에 C라는 다른 물질의 peak가 형성됨을 알 수 있다. 추출물의 100°C에서 열처리 시 물질이 변화되는 양상을 보임으로 다양한 방법의 기능성 평가를 행하였다.

항산화 활성

각 시료별로 열처리 전후의 항산화성을 비교하였는데 0.5 mg/ml 시료에서는 CW가 7.4% CHW가 5.4%, 1.0 mg/ml 시료에서는 CW가 9.6% CHW가 10.1%, 2.5 mg/ml 시료에

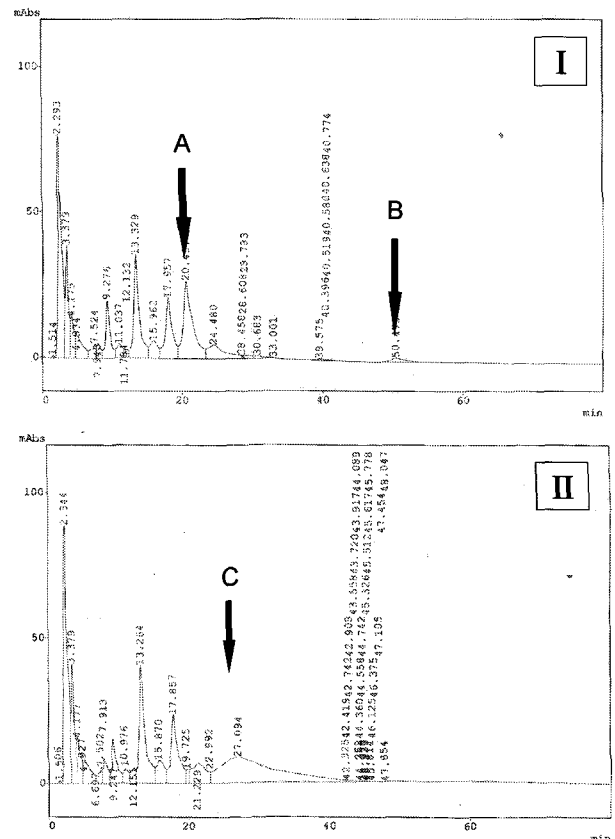


Fig. 1. HPLC analysis of CW(I) and CHW(II).

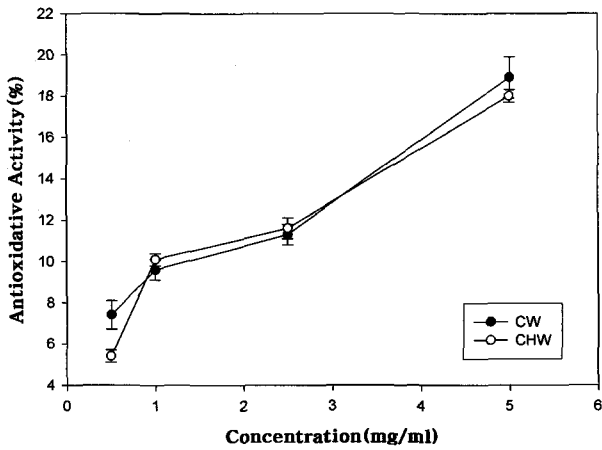


Fig. 2. Antioxidative activity of CW and CHW.

서는 CW가 11.3% CHW가 11.6%, 5.0 mg/ml 시료에서는 CW가 18.9% CHW가 18.0%로 열처리에 따른 항산화성 차이는 미미하였다 (Fig. 2). 대조군인 L-ascorbic acid(0.1 mg/ml)에서는 96.7±1.2(%)의 활성이 나타났다.

ACE저해 (항고혈압 활성)효과

Fig. 3에서 보는 바와 같이 0.5 mg/ml 농도의 시료에서는 CW가 7.5%, CHW가 5.1%, 1.0 mg/ml 시료에서는 CW가 11.5% CHW가 4.1%, 2.5 mg/ml 시료에서는 CW가 19.8% CHW가 10.6%, 5.0 mg/ml 시료에서는 CW가 32.3% CHW가 14.1%로 나타났다. 이를 살펴보면 전체적으로 항고혈압 활성

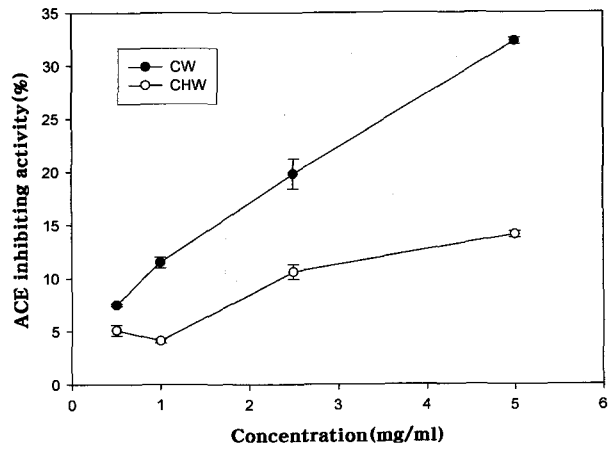


Fig. 3. ACE inhibiting activity of CW and CHW.

이 낮으나, 상온추출물 (CW)이 이후 열처리 시료(CHW)보다 항고혈압 활성이 5.0 mg/ml에서 2배 가량 높았다.

항암활성

Fig. 4A에서 CCL-185에 대한 세포독성을 살펴보면, 0.1 mg/ml 시료에서는 CW가 15.7%, CHW가 8.5%, 0.25 mg/ml 시료에서는 CW가 30.3%, CHW가 10.3%, 0.5 mg/ml 시료에서는 CW가 41.4%, CHW가 13.8%, 1.0 mg/ml 시료에서는 CW가 67.3%, CHW가 25.5%로 열처리전의 시료가 폐암에 대한 항암활성이 높았다.

Fig. 4B에서 SNU-601에 대한 세포독성은 0.1 mg/ml 시료

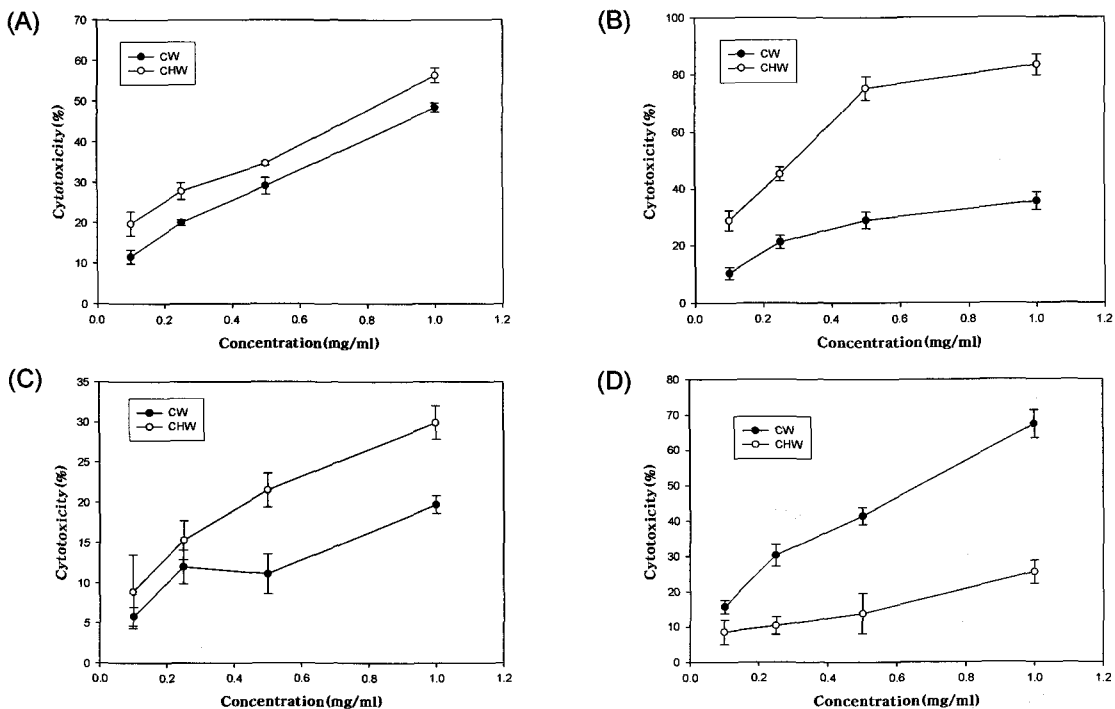


Fig. 4. Cytotoxicity against cancer cells (A; CCL-185, B; SNU0601, C; HepG2, D; HeLa) of CW and CHW.

에서는 CW가 11.5% CHW가 19.7%, 0.25 mg/ml 시료에서는 CW가 20.0%, CHW가 27.8%, 0.5 mg/ml 시료에서는 CW가 29.1%, CHW가 34.7 %, 1.0 mg/ml 시료에서는 CW가 48.4% CHW가 56.3%로 열처리시료가 위암에 대하여 약간 더 높은 항암 활성을 보였다.

Fig. 4C에서 HepG2에 대한 세포독성은 0.1 mg/ml 시료에서는 CW가 10.3%, CHW가 28.8%, 0.25 mg/ml 시료에서는 CW가 21.2%, CHW가 45.2%, 0.5 mg/ml 시료에서는 CW가 28.9%, CHW가 75.2 %, 1.0 mg/ml 시료에서는 CW가 35.5%, CHW가 83.3%로 열처리전의 시료보다 열처리 시료의 활성이 2-2.5배가량 높게 나타났다.

Fig. 4D에서 HeLa에 대한 세포독성은 0.1 mg/ml 시료에서는 CW가 5.8%, CHW가 8.9%, 0.25 mg/ml 시료에서는 CW가 12.0%, CHW가 15.3%, 0.5 mg/ml 시료에서는 CW가 11.1% CHW가 21.5%, 1.0 mg/ml 시료에서는 CW가 19.7% CHW가 29.9%로 전반적으로 HeLa에 대한 항암활성은 낮으나, 열처리 시료가 조금 높게 나타났다. 결과적으로 항암활성에 있어서 열처리에 의한 구조적 변화가 암세포에 대한 세포독성을 높여주는 것으로 판단된다.

Tyrosinase 활성 저해

추출물들의 미백효과를 관찰하기 위하여 8 µg/ml, 16 µg/ml, 32 µg/ml, 64 µg/ml, 125 µg/ml의 다섯 구간에서 Tyrosinase활성 저해를 측정하였다(Fig. 5). 8 µg/ml에서는 CW가 14%, CHW가 13%, 16 µg/ml에서는 CW가 7%, CHW가 10%, 32 µg/ml에서는 CW가 4%, CHW가 8%, 64 µg/ml에서는 CW가 5%, CHW가 8%, 125 µg/ml에서는 CW가 8%, CHW가 5%의 활성을 보이는 등 멜라닌 색소의 형성에 밀접한 Tyrosinase의 활성을 억제하는 능력은 두 시료에서 모두 낮게 나왔다.

Melanogenesis 억제

Tyrosinase를 이용한 효소적 저해능 대신 보다 직접적인

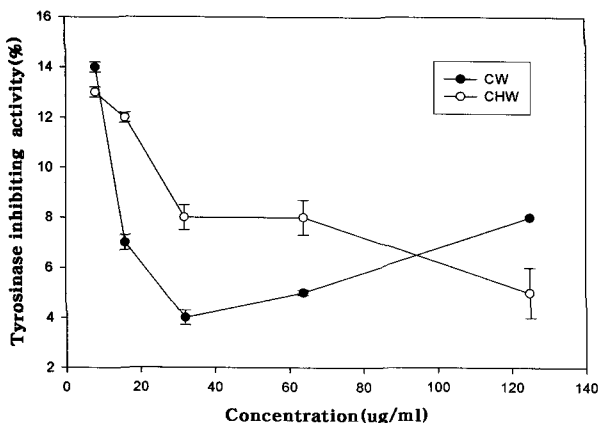


Fig. 5. Tyrosinase inhibiting activity of CW and CHW.

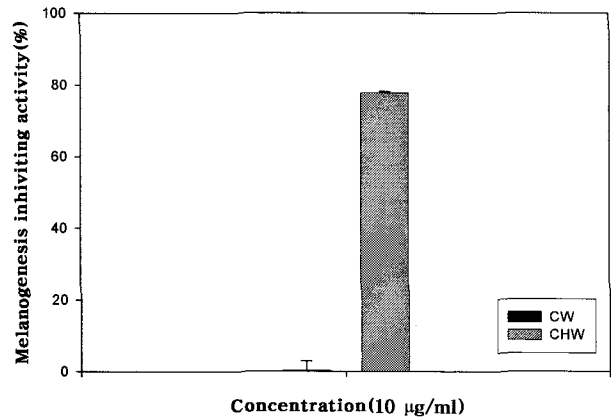


Fig. 6. Melanogenesis inhibiting activity of CW and CHW.

방법으로 melanoma cell을 사용하여 세포내 멜라닌 생성의 억제 정도를 관찰하였다 (Fig. 6). 시료 10 µg/ml의 농도에서 (세포독성은 3% 이내) 열처리의 전후의 Melanogenesis 억제능을 측정한 결과, CW에서는 0±2.6%, CHW는 77.8±0.4%로 Tyrosinase의 억제와 다른 경로를 통한 멜라닌 색소 형성 저해가 열처리 군에서 아주 높게 나타남을 알 수 있었다.

요 약

황금에 대한 수 추출물의 열 변환에 의한 생리활성 변화를 보기위하여 HPLC를 통한 peak분석과 기능성 평가를 하였다. 열처리 전의 시료 (CW)와 열처리 후의 시료 (CHW)간의 peak분석에서 CW와 CHW의 비교 시 A와 B가 없어지고 열처리 후에 C라는 다른 물질의 peak가 형성됨을 알 수 있었다. 또한, 전체적인 기능성 평가에서 항산화성에서는 CW와 CHW 별 차이가 없었고, 항고혈압 활성은 CW가 높았다. 항암성에 있어서 폐암에서는 CW가 높았고, 위암, 간암, 후두암 등에는 CHW가 높게 나왔다. 그리고, 멜라닌 생성세포의 멜라닌 생성 억제는 CHW에서 약 80%로 매우 높게 나타났다. 결론적으로 열처리를 통한 시료 내 구성성분의 변환이 기능성 차이를 보여주며, 이는 새로운 열 변환 물질의 생성 때문으로 판단된다. 이들 변화된 물질은 황금의 주성분인 Baicalin 외의 물질이 열 변환 된 것으로, 생성된 물질에 대한 구조분석이 필요한 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 해당연도 전남대학교 학술연구비의 지원을 받아 수행된 연구입니다.

참고문헌

1. Ando, S., O. Ando, Y. Suemoto and Y. Mishima. 1993.

- Tyrosinase gene transcription and its control by melanogenic inhibitor. *J. Invest Dermatol.* **100**, 150-155.
2. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1121.
 3. Cha, J. Y., S. H. Park, J. S. Heo and Y. S. Cho. 2007. Effects of water extract from fermented *Chaga* mushroom(*Inonotus obliquus*) on the proliferation of human cancer cell lines. *J. Life Sci.* **17**, 671-677.
 4. Cho, S. H. and Y. R. Kim. 2001. Antimicrobial effects of *Scutellariae radix* extract against *Listeria monocytogenes*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 959-963.
 5. Cushman, D. W. and H. S. Cheung. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology* **20**, 1637-1648.
 6. Hashiguchi, H. and H. Takahashi. 1976. Inhibition of two copper containing enzymes, tyrosinase and dopamin β -hydroxylase by L-Mimosiine. *Molecular Pharmacology* **13**, 362-367.
 7. Hwang, S. W., J. Lee, H. S. Kwon, K. D. Lee, S. H. Nam, K. H. Park and M. S. Yang. 2005. Comparison of tyrosinase inhibitory effect of the natural antioxidants from *Cedrela sinensis*. *Agric. Chem. Biotechnol.* **48**, 144-147.
 8. Imokawa, G. and Y. Mishima. 1982. Loss of melanogenic properties in tyrosinase induced by glycosilation inhibitors within malignant melanoma cells. *Cancer Res.* **42**, 1994-2002.
 9. Ishihara, K., T. Takemura, Y. Hamada, C. Sakai, S. Kondoh, S. Nishiyama and K. Urabe. 1993. Pigment production in murine melanoma cell is regulated by tyrosinase, tyrosinase-related protein (TRP1), DOPAchrome tautomerase (TRP2) and a melanogenic inhibitor. *J. Invest Dermatol.* **2**, 126-131.
 10. Kim, Y. R. and S. H. Cho. 2002. Antimicrobial activities of *Scutellariae radix* extract against *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 534-538.
 11. Kwak, J. H., Y. H. Kim, H. R. Chang, C. W. Park and Y. H. Han. 2004. Inhibitory effect of gardenia fruit extracts on tyrosinase activity and melanogenesis. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **19**, 437-440.
 12. Lee, B. C., K. H. Leem, Y. O. Kim, S. Y. Kim, D. K. Ahn, H. K. Park and H. C. Kim. 1999. Neuroprotective effects of *Scutellariae radix* on the brain ischemia induced by four-vessel occlusion in rats. *Korean J. Herbology* **14**, 89-96.
 13. Lim, S. Y., K. H. Kim, K. Y. Park and S. H. Lee. 2007. Effect of solvent fractions from Doenjang on anti-mutagenicity, growth of tumor cells and production of Interleukin-2. *J. Life Sci.* **17**, 791-797.
 14. Lim, S. Y., K. Y. Park, S. H. Lee and J. S. Choi. 2007. Inhibitory effect of methanol extracts and solvent fractions from Meju on mutagenicity and growth of human cancer cells. *J. Life Sci.* **17**, 76-81.
 15. Lopez, J. N. R., J. Tudela, R. Varon, F. G. Carmona and F. G. Canovas. 1992. Analysis of a kinetic model for melanin biosynthesis pathway. *J. Biol. Chem.* **267**, 3901-3910.
 16. Masuda, M., T. Tajima and T. Suzuki. 1996. Skin lighteners, *Cosmetics & Toiletries* **111**, 65-77.
 17. Oh, S. S., E. J. Seo, H. Y. Kim, Y. B. Ryu, J. H. Lee, S. W. Gal and K. H. Park. 2007. Tyrosinase inhibitory Xanthenes from *Cudrania tricuspidata*. *J. Life Sci.* **17**, 476-481.
 18. Park, M. K., K. S. Jung and M. J. In. 2004. Effects of *Scutellaria baicalensis* and *Phellodendron amurense* extracts on growth of lactic acid bacteria and Kimchi fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 420-426.
 19. Park, S. S., Y. B. Ryu, Y. H. Lee, Y. U. Cho, S. J. Cho, Y. J. Choi, K. H. Park and S. W. Gal. 2007. Inhibition of melanin synthesis by mycelial culture broth of *Paecilomyces japonica* in the mulberry leaf extract. *J. Life Sci.* **17**, 816-821.
 20. Rhee, J. S., E. R. Woo, N. H. Kim, E. J. Lee, D. K. An, J. H. Lee, S. K. Park and H. K. Park. 1997. A study on qualitative and quantitative analysis of major ingredients in *Scutellariae radix*. *Analytical Sci. & Technol.* **10**, 91-104.
 21. Yang, J. H., D. S. Kim, H. D. Yoo and N. H. Lee. 1996. Preparation and bioavailability of Oriental Medicine containing Baicalin (II). *J. Korean Pharm. Sci.* **26**, 91-98.