

천연소재의 화장품약리활성에 관한 연구

김영훈 · 조우아* · 이진태[†]

대구한의대학교 화장품약리학과 · *남부대학교 향장미용학부

Study on Cosmeceutical Acitivities of Natural Material

Young-Hun Kim · Woo-A Cho* · Jin-Tae Lee[†]

Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University

*Department of Cosmetology Science, Nambu University

(2007. 8. 14. 접수/2007. 9. 13. 채택)

Abstract

The most extensively used synthetic antioxidants are butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) and tert-butylhydroquinone (TBHQ). However BHT and BHA have been suspended of being responsible for liver damage and car cinogenesis. Therefore, the importance of the search and exploitation of natural antioxidant, especially of plant origin, has greatly increased in recent years. Plant contain a wide variety of chemicals that have potent biological effects. As a result, there has been a growing interest in the use of herbs as a source of therapeutic drugs. The aim of this study was to assess the antioxidant and cosmeceutical of natural materials. The antioxidant and cosmeceutical activity of natural materials were investigated by hydroxyl radical scavenging, superoxide dismutase (SOD) -like, xanthine oxidase inhibition, tyrosinase inhibition, anti-microbial and astringent.

Key words: Natural material, Antioxidant, Anti-inflammatory, Whitening, Anti-microbial, Astringent

I. 서 론

최근 자연지향적이고 환경친화적인 well-being 소비추세에 따라, 화장품에 들어가는 유효성분도 화학물질뿐만 아니라 식물 또는 동물 유래의 천연물이 그 유용성을 기반으로 하여 여러 가지 형태로 화장품에 배합되어 사용되고 있다. 특히 자연주의의 바람을 타고 생약을 포함한 식물성 원료에서 해양원료에 이르기까지 다양한 천연소재를 이용한 화장품의 개발이 이루어져 천연화장품과 한방화장품의 전성시대가 도래하고 있다(Table 1).

최근 우리나라에서는 화장품 신소재 산업에 대한 특화사업이 활발히 추진되고 있다. 제주도의 화장품

산업 발전 프로그램(제주 향장사업단)을 비롯하여 각 지역 특산물과 자원을 활용하여 부가가치가 높은 화장품 소재와 기능성 화장품을 생산하기 위한 다양한 연구가 이루어지고 있다. 기능성 화장품법이 시행되고 있는 지금, 화장품의 기능은 단순히 피부 보호 또는 보습의 역할에서 한발 더 나아가 미백, 주름 예방 등의 기능성을 강조하는 제품 개발이 활발히 이루어지고 있다. 기능성 화장품 산업은 산업의 특성상 다 품종 소량생산, 환경친화형, 고부가가치, 지식기반산업으로 부존자원의 부족한 국내여건에 매우 적합할 뿐만 아니라 원료에 따라서는 의약품이나 기능성 식품용소재로 활용이 가능하다. 타 분야에 비해 기능성 화장품 산업은 NT, BT, IT등과의 접목이 비교적 용이하기 때문에 적기에 기술 투자를 한다면 기존 화장품 선진국을 추월할 수 있는 도약의 기회가 될 수 있

[†]Corresponding author: Jin-Tae Lee
E-mail: jtlee@dhu.ac.kr

<Table 1> 화장품원료 기준(장원기)에 수재되어 있는 대표적인 천연물 원료 품목

갈조추출물 구아검 녹차추출물 들국화추출물 마트리카리아추출물 밍크오일 세이지추출물 쌀전분 아카시아 옥수수전분 유용성감초추출물 참기름 카렌티라추출물 파마자유 혼합식물추출물	감자전분 굴추출물 닭벼슬추출물 딸기추출물 면실유 변성식용전분 수세미추출물 쑥추출물 알로에베라젤 올리브오일 의이인추출물 창포추출물 코코넛오일 하이페리쿰추출물 화분추출물	감초추출물 그레이프씨드오일 당근추출물 로즈마리추출물 미네랄오일 비파두스추출물 스쿠알렌 아몬드오일 알로에추출가루 우유단백추출물 인삼추출물 천궁추출물 큰키오린가루 헨나추출물 황토	고삼추출물 그레이프프룻추출물 당약추출물 로커스트빈검 밀납 사플로워오일 식물성스쿠알렌 아보카도오일 알로에추출물 울금추출물 작약추출물 치자추출물 풍기름 호스테인추출물 효모추출물등	고추틴크 꿀 동백유 마카데미아넛 오일 밀전분 상백피추출물 실크가루 아이비추출물 에그오일 월견초유 장미수 카라야검 파슬리추출물 호호마오일
---	--	---	---	--

천연물유래 화장품소재의 개발동향 (2003년)

으므로 국내화장품 업체들은 최근 들어 불모지로 여겨졌던 원료의 국산화에 박차를 가하고 있다.

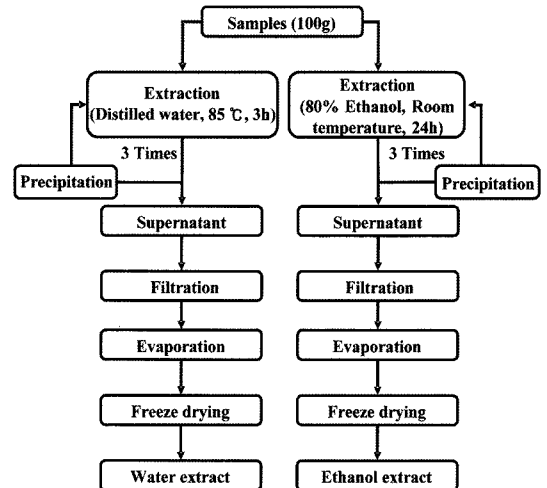
생명공학기술의 발달을 기반으로 피부세포의 분화, 노화현상, 인공피부의 개발 등 피부과학에 대한 이해가 깊어짐에 따라 다양한 기능성 화장품의 개발이 활발히 추진되고 있다. 주름 개선, 미백 및 자외선 차단물질, 유해산소 제거, 콜라겐 합성 촉진, 피부주름 방지, 면역 증강 및 항염증, 육포제 등의 다양한 기능의 천연물 화장품 소재가 제품화 되고 있으며 지속적인 개발이 진행될 것으로 사료된다. 특히 고기능성의 천연 제품에 대한 수요가 증가하고 있어 천연물에 대한 연구는 국내 화장품 원료개발의 주요한 부분으로써 경쟁력을 가질 수 있는 부분이며 앞으로도 지속적인 발전이 가능할 것으로 생각된다. 기능성 원료에 대한 효력 평가 방법은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)와 nitrite 등의 radical 소거하는 항산화능 평가와 SOD (Superoxide Dismutase)-like 활성, Xanthine oxidase 저해하는 항산화 활성등이 있으며, Tyrosinase 저해활성과 Melanin 생합성 억제제를 이용한 미백활성능 평가, Elastase 활성억제를 통한 주름 개선능 평가 등이 있다.

따라서 본 연구팀은 기초연구 및 산업적 응용을 위한 천연소재의 과학적 입증과 기초적인 데이터 확립을 위해 현재 진행되고 있는 천연소재의 추출 및 생리활성에 관한 기초적인 지식과 실험방법에 대해 서술하고자 한다.

II. Experimental and method

1. Preparation of natural extracts

시료의 추출은 약리활성실험 및 산업화를 위한 추



<Scheme 1> Procedure for extraction from natural materials

출은 Scheme 1과 같이 추출하였다. 즉, 열수추출물의 경우, 시료의 10배 양의 종류수를 가하여 85°C에서 3시간 환류냉각 추출하여 상등액과 침전물을 분리하여 3회 반복 추출하였다. 시료의 에탄올추출은 80% 에탄올 10배의 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상등액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각 추출물을 원심분리 및 여과, 농축하여 동결건조 실험에 사용되는 추출물을 얻을 수 있다.

2. Anti-oxidant activity

1) Hydroxyl radical Scavenging activity

Hydroxyl radical Scavenging activity를 측정하기 위하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)을 이용

하는데 DPPH radical을 이용한 항산화 측정법은 주로 phenolic 구조와 aromatic amine 화합물에서 많이 사용되는 방법이다. 생체막 구성성분을 파괴하며 각종 산화작용을 나타내는 활성산소를 소거하여 줄 수 있는 활성을 알아보기 위하여 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)은 안정한 자유 라디칼로서 시료가 항산화활성을 갖고 있다면, DPPH가 갖고 있는 지질산화에 관여하는 free radical의 비공유결합을 소거하여 DPPH의 환원성을 높일 것이고, 보라색의 DPPH가 환원이 많이 될 수록 보라색을 잃게 되어 UV 측정시 그 수치도 낮아진다. DPPH를 첨가하여 반응시켜 추출물이 DPPH의 비공유전자를 소거했을 때 그것의 비공유전자로 인해 517 nm 부근에서 최대 흡수치를 나타낸다. 전자 또는 수소를 받으면 517 nm부근에서 흡광도가 감소한다. Kang 등은 전자공여능이 phenolic acids와 flavonoids 및 기타 phenolic 성 물질에 대한 항산화작용의 지표라 하였으며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 하였다. 또, Mahoney와 Graf 등은 이러한 전자공여능은 유지의 자동 산화과정 중에 생성되는 ROO, R, RO등에 수소 또는 전자를 주는 것으로 환원력이 중요한 작용을 하지만 항산화제의 일반적인 작용을 전자공여능만으로 설명할 수는 없다고 하였으며, 항산화 물질의 전자공여능을 측정할 때는 DPPH법이 편리하다고 알려져 있으나, 색소가 함유된 추출물의 경우 DPPH법의 적용에는 많은 경험이 요구되고 있다. 각 추출물에서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다. DPPH radical 소거능은 Blois 등의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정할 수 있다. 각 시료용액 100 μ l에 0.2 mM의 DPPH 50 μ l을 넣고 교반한 후 30분간 실온에서 반응 시킨 후 ELISA reader(BioTek Co., USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정한다.

$$\text{scavenging activity}(\%) = \left(1 - \frac{A_0 - A_1}{A_0}\right) \times 100$$

A_0 : absorbance of the control without sample

A_1 : absorbance of the mixture containing sample

2) Superoxide dismutase(SOD)-like activity

활성산소를 제거시키는 대표적인 효소인 Superoxide

dismutase는 체내에 필요 이상의 활성산소가 생겼을 때 이것을 중화하는 작용을 하는 물질로 세포에 유해한 환원 산소종을 과산화수소로 전환 시키는 반응($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)을 촉매하는 효소이며, SOD에 의해 생성된 H_2O_2 는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환시켜 산소 상해로부터 생체를 보호하는 기능으로 알려져 있다. 또한 SOD는 자유 라디칼을 근본적으로 제거하는 효소이고 다른 종류의 항산화제보다 우수한 효과를 나타내기 때문에 의약품제제로서 많은 관심을 일으키고 있으며, 현재 항염증제나 피부 노화방지를 위한 미용제제로 화장품 등에 이용이 되고 있다. 그러나 SOD는 30 Kda 이상의 분자량을 가진 단백질물질로 체내에 쉽게 흡수되지 못하며 체외로 배출되며, 열에 약하여 70°C이상의 온도에서 쉽게 불활성화 되고 pH 10이상에서는 매우 불안정한 단점을 가지고 있다. 따라서 이러한 단점들을 보완할 수 있는 저분자 물질에 관한 연구, 천연물의 항산화 효과에 관한 연구가 많은 연구자들에 의해 활발히 진행되고 있는데, 예를 들어 유칼리나무, Nut류, 맛두릅, 양지꽃, 작약 등과 같은 천연물로부터의 항산화 효과에 관한 연구가 보고되어져 있다. 또한 체내에서 SOD와 역할이 유사한 SOD 유사활성 물질에 대한 연구가 진행되고 있으며, 이것은 산화방지는 물론 노화 억제와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다.

SOD 유사활성은 Marklund 등의 방법을 이용하여 측정하는데, 각 시료용액 20 μ l에 Tris-HCl 완충용액(50 mM tris+10 mM EDTA 2Na, pH 8.5) 260 μ l와 7.2 mM pyrogallol 20 μ l를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 5N HCl 10 μ l를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정한다.

$$\text{Activity}(\%) = \left(1 - \frac{A_0 - A_1}{A_0}\right) \times 100$$

A_0 : absorbance of the control without sample

A_1 : absorbance of the mixture containing sample

3) Xanthine oxidase inhibition activity

Xanthine oxidase는 purine 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하며 urate가 혈장 내에 증가되면 골절에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍과 신장에 침착되어 신장 질환을 일으키는 효소로 알려져 왔다. 통풍을 일으키

는 원인 물질인 요산은 hypoxanthine과 xanthine에서 xanthine oxidase의 촉매로 산화되어 요산이 되며, 요산 생성 효소인 xanthine oxidase는 Mo와 Fe를 함유하는 flatoprotein이다. 또한, xanthine oxidase는 분자상의 산소를 수소 수용체로 이용하여 xanthine을 uric acid 형태로 산화하는 반응을 촉매 한다. 따라서 xanthine oxidase의 저해효과는 유리 라디칼의 생성 억제와 더불어 생물학적으로 중요한 의의를 가진다고 할 수 있다.

Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte의 방법에 따라 할 수 있는데, 각 시료용액 0.1 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL에 xanthine(2 mM)을 녹인 기질액 0.2 mL를 첨가하고 xanthine oxidase(0.2 U/mL) 0.1 mL를 가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 1N HCl 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정한다. Xanthine oxidase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 구할 수 있다.

$$\text{Inhibition activity}(\%) = \left(1 - \frac{A_0 - A_1}{A_0}\right) \times 100$$

A_0 : absorbance of the control without sample

A_1 : absorbance of the mixture containing sample

3. Whitening activity

1) Tyrosinase inhibition activity

Tyrosinase(monophenol, dihydroxy-L-phenylalanin : oxygen oxidore-ductase, EC 1.14.18.1)는 구리를 함유한 효소로서 melanin 합성의 초기단계인 L-tyrosine에서 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA), DOPA에서 L-dopaquinone으로의 전이에 작용한다. 자외선에 의하여 melanocyte의 유사분열이 일어나고 이어서 melanocyte가 활성화 된다. 활성화된 melanocyte 에서는 tyrosinase 합성이 촉진되고 melanin이 생성되어 이를 표피 밖으로 운반 배출하게 되어 기미, 주근깨와 같은 색소침착이 일어나게 된다. 그러므로 tyrosine 합성 억제제는 피부 내에서의 melanin polymer 합성을 효과적으로 저해할 수 있어 피부 미백제의 개발에 있어서 tyrosinase 활성억제 실험은 유용한 평가법으로 인정되고 있다. 따라서 tyrosinase는 melanin 생합성 과정에서 중요한 역할을 하므로 tyrosinase 억제제를 피부의 melanin 색소생성을 조절할 수 있는 물질로 사용할 수 있다. 또한 Tyrosinase 저해제인 4-

hydroxyanisole, hydroquinone 등은 인체의 hyperpigmentation 치료에 사용되고 있으며, melanoma cell의 증식억제에도 효과가 있는 것으로 보고되었다.

Tyrosinase 저해활성 측정은 Yagi 등의 방법을 변형하여 측정할 수 있는데, 1/15M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 0.5 mL에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 mL 및 시료용액 0.1 mL의 혼합액에 mushroom tyrosinase(110 U/mL) 0.2 mL 첨가하여 25°C에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm에서 측정한다.

$$\text{Inhibition activity}(\%) = \left(1 - \frac{A_0 - A_1}{A_0}\right) \times 100$$

A_0 : absorbance of the control without sample

A_1 : absorbance of the mixture containing sample

2) Melanin synthesis inhibition activity

Melanin 합성은 cytokine, basic fibroblast growth factor(bFGF), α -melanocyte stimulating hormone(α -MSH), cyclic AMP(cAMP) 유도물질인 cholera toxin과 forskolin, melanocyte gene expression factor 등에 의해서 조절된다.

멜라닌 정량은 Hosoi 등의 방법으로 측정할 수 있는데, 배양세포를 phosphate buffer saline로 3회 세척한 후, trypsin EDTA를 가하여 세포를 수거하였다. 이를 원심 분리하여 얻은 세포 침전물에 lysis buffer (Triton X-100+0.1M sodium phosphate buffer pH 7.0)를 가하여 세포를 파괴한 후 원심 분리하여 침전물만을 사용하였다. Acid-insoluble material을 얻기 위해 10%의 DMSO가 첨가된 1N NaOH 130 μ L을 넣어 80°C에서 1시간 동안 용해하였다. 이를 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 합성 멜라닌을 기준으로 하여 표준 곡선에서 멜라닌을 정량하여 멜라닌 생합성 억제효과를 측정할 수 있다.

4. Anti-microbial activity

1) bacteria culture

전 배양 및 실험을 위한 액체 배지는 *Streptococcus mutans* 및 *Candida albicans*는 각각 brain heart infusion (BHI) 및 YM Broth(YMB)를 사용하고, 고체 배지는 brain heart infusion agar(BHIA) 및 YM agar(YMA)를 사용한다. *Escherichia coli* 및 *Staphylococcus epider-*

*midis*의 액체 배지로서 nutrient broth(NB)를 사용하며, 고체 배지는 nutrient agar(NA)를 사용한다. *Staphylococcus aureus*의 액체 배지로서 tryptic soy broth(TSB)를 사용하며, 고체 배지는 tryptic soy agar(TSA)를 사용하여 BOD incubator에서 37°C로 배양하여 실험에 사용된다. *Propionibacterium acnes*는 GAM 액체 배지와 고체 배지를 사용하고 혐기성 상태인 anaerobic system envelopes(BD BBL., USA)에서 배양한다.

2) Anti-microbial activity

항균활성이 우수한 천연추출물의 선행연구에서는 홀아비꽃대 23 mm, 방기 18 mm, 고삼 15 mm, 은행 15 mm의 *Propionibacterium acnes*에 대한 항균 활성에 비해 우수한 항균활성을 나타내었다.

항균력 측정은 paper disc법으로 측정할 수 있는데, 평판 배지에 배양된 각 균주를 1 백금이량 취해서 액체 배지 10 mL에서 18~24시간 배양한 후, 이를 다시 액체 배지 10 mL에 0.1 mL 접종하여 3~6시간 분 배양하였다. 평판배지에 멸균 면봉으로 균주를 균일하게 도말한 후 멸균된 8 mm의 filter paper disc를 고체 평판배지에 올려놓는다. 시료를 농도별로 filter paper disc에 흡수시켜 37°C에서 18~24시간 배양하여 disc 주위의 clear zone(mm)의 직경을 측정하여 항균성을 평가할 수 있다.

5. Astringent activity

수렴작용의 원리는 피부 단백질이 고분자 flavonoids와 결합하여 가교결합을 형성하여 피부가 수축되는 현상을 말한다. 수렴이란 말에는 기본적으로 주름이 지고 혹은 움츠린다는 의미가 있다. 수렴제는 피부와 점막 혈관 등을 수축시키는 작용이 있고, 혹은 세포 간극 및 림프간극을 가로막고 점액의 분비를 억제시키고 있다. 수렴제는 보통 단백질과 결합하는 성질을 가지기 때문에 그 성질에 의해서 생기는 효과가 수렴 작용이라고 불리고 있다. 따라서 수렴 작용의 실험에서는 hemoglobin의 단백질이 추출물과 결합하는 정도에 따라서 수렴 효과 정도를 판단하였다. 이러한 수렴 작용에는 외용 혹은 내용에 의해서 피부와 점막의 표면에 난용성이 피막을 형성하고 그 결과 국소를 보호하거나, 혹은 조직을 조밀하게 하여 세포막의 투과성을 감소시키는 효과가 있다고 보인다. 이상과 같은 실험 결과에서 판람근 추출물이 모공수축용 화장

품으로도 응용을 할 수 있음을 알 수 있다.

천연추출물을 이용한 astringent 실험은 Lee 등의 방법 따라 측정할 수 있는데, 피부 단백질과 유사하고 시료를 쉽게 구할 수 있는 혈액 단백질(Hemoglobin from Bovine, Sigma Co., USA)을 사용하고, 원심분리관 용기에 각각의 추출물 용액과 헤모글로빈 용액을 1:1로 넣어서 진탕혼합한 다음 원심분리 후 576 nm에서 흡광도를 측정하여 수렴효과를 측정할 수 있다.

III. 결 론

국내 화장품 산업은 정밀화학 제품 중 의약산업 다음으로 큰 시장을 형성하며 국가 산업을 지탱하고 있다. 그 중에서도 특히 기능성 화장품 시장은 매년 8% 이상의 높은 증가율을 보이며 성장하고 있다. 그럼에도 불구하고 현재 화장품 원료는 90% 이상을 해외 수입에 의존하고 있다. 그 수입 증가율도 점점 가속화되고 있는 실정이다. 이는 국제적으로 경쟁력을 가질 수 있는 신소재를 확보하지 못한데 그 원인이 있다고 하겠다. NT, BT, IT 등과의 접목이 비교적 용이하기 때문에 적기에 기술 투자를 한다면 기존 화장품 선진국을 추월할 수 있는 도약의 기회가 될 수 있으므로 더 많은 관심과 연구가 필요할 것으로 사료된다. 특히 고기능성의 천연 제품에 대한 수요가 증가하고 있어 천연물에 대한 연구는 국내 화장품 원료개발의 주요한 부분으로써 경쟁력을 가질 수 있는 부분이며 앞으로 지속적인 발전이 가능할 것으로 생각된다.

참고문헌

- 1) 한국보건산업진흥원(2006). 국내화장품 산업 연구개발 자원현황, 한국보건산업진흥원. pp. 1-3.
- 2) 한국보건산업진흥원(2006). 국내외 주요 화장품 소재 출시동향, 한국보건산업진흥원. pp. 1-5.
- 3) 중앙대학교(2004). 천연물을 이용한 기능성화장품에 대한 평가기술 개발-탄닌 및 관련 페놀성 화합물을 이용한 미백 및 항산화 효능 기능성 화장품에 대한 평가기술, -품의약품안전청 연구보고서, pp.20-34.
- 4) Kang, Y.H., Park, Y.K., Lee, G.D. (1996). Nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci Technol.* 28(2), p.232.
- 5) Mahoney, J.R., Graf, E., Bryant, R.G., Eaton, J.W. (1984). Iron-catalyzed hydroxyl radical formation stringent requirement for free iron coordination site. *J. Biol Chem.* 259(6), pp.3620-3624.

- 6) Aoshima H, Tsunoue H, Koda H, Kiso Y(2004). Aging of whiskey increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. *J. Agric Food Chem.* 52(16), pp.5240-5244.
- 7) Kim, H.K., Kim, Y.E., Do, J.R., Lee, Y.C., Lee, B.Y. (1995). Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci Technol.* 27(1), pp.80-85.
- 8) Blois, M.S. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, pp.1199-1200.
- 9) Pryor, W.A. (1986). Oxy-radicals and related species : their formation, lifetimes, and reactions. *Annu Rev Physiol.* 48, pp.657-667.
- 10) Donnelly, J.K., McLellan, K.M., Walker, J.L., Robinson, D.S. (1989). Superoxide dismutases in foods. A review. *Food Chem.* 33(4), pp.243-270.
- 11) Kim, S.J., Han, D., Moon, K.D., Rhee, J.S. (1995). Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. *Biosci Biotechnol Biochem.* 59(5), pp.822-826.
- 12) Korycka-Dahl, M.B., Richardson, T. (1978). Activated oxygen species and oxidation of food constituents. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr.* 10(3), pp.209-241.
- 13) Hicks, C.L, Bucy, J., Stofer, W. (1979). Heat inactivation of superoxide dismutase in bovine milk. *J Dairy Sci.* 62(4), pp.529-532.
- 14) Lee, I.K., Yun, B.S., Kim, J.P., Chung, S.H., Shim, G.S., Yoo, I.D. (1998). Antioxidative compounds isolated from the stem bark of eucalyptus globulus. *Kor J Pharmacogn.* 29(3), 163-168.
- 15) Cha, B.C., Lee, H.W., Choi, M.Y. (1998). Antioxidative and antimicrobial effects of nut species. *Kor J Pharmacogn.* 29(1), pp.28-34.
- 16) Kim, J.S., Kang, S.S., Choi, J.S., Lee, M.W., Lee, T.S. (1998). Antioxidant components from *Aralia continentalis*. *Kor J Pharmacogn.* 29(1), pp.13-17.
- 17) Choi, Y.H., Kim, M.J., Lee, H.S., Yun, B.S., Changxu, Hu, Kwak, S.S. (1998). Antioxidative compounds in aerial parts of *potentilla fragarioides*. *Kor J Pharmacogn.* 29(2), pp.79-85.
- 18) Bang, M.H., Song, J.C., Lee, S.Y., Park, N.K., Baek, K.I. (1999). Isolation and structure determination of antioxidants from the root of *Paeonia lactiflora*. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol.* 42(2), pp.170-175.
- 19) Cha, B.C., Lee, S.K., Lee, H.W., Lee, E., Choi, M.Y., Rhim, T.J., Park, H.J. (1997). Antioxidative effect of domestic plants. *Kor J Pharmacogn.* 28(1), pp.15-20.
- 20) Marklund, S, Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 47(3), pp.469-474.
- 21) Hatano, T., Yasuhara, T., Fukuda, T., Noro, T., Okuda, T. (1989). Phenolic constituents of licorice. II. Structures of licopyranocoumarin, licoaryl coumarin and glisoflavone, and inhibitory effects of licorice phenolics on xanthine oxidase. *Chem Pharm Bull.* 37(11), pp.3005-3009.
- 22) Stürpe, F., Della Corte E. (1969). The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem.* 244(14), pp.3855-3863.
- 23) Lerner, A.B., Fitzpatrick, T.B. (1950). Biochemistry of melanin formation. *Physiol Rev.* 30(1), pp.91-126.
- 24) Korner, A., Pawelek, J. (1982). Mammalian tyrosinase catalyzes three reactions in the biosynthesis of melanin. *Science.* 217(4565), pp.1163-1165.
- 25) Imokawa, G, Mishima, Y. (1981). Biochemical characterization of tyrosinase inhibitors using tyrosinase binding affinity chromatography. *Br J Dermatol.* 104(5), pp.531-539.
- 26) Imokawa, G, Mishima, Y. (1980). Isolation and characterization of tyrosinase inhibitors and their differential action on melanogenic subcellular compartments in amelanotic and melanomas. *Br J Dermatol.* 103(6), pp.625-633.
- 27) Tomita, K., Oda, N., Ohbayashi, M., Kamei, H., Miyaki, T., Oki, T. (1990). A new screening method for melanin biosynthesis inhibitors using *Streptomyces bikiniensis*. *J Antibiot.* 43(12), pp.1601-1605.
- 28) Yagi, A., Kanbara, T., Morinobu, N. (1986). The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Medica.* 39(8), pp.517-519.
- 29) Hosoi, J., Abe, E., Suda, T., Kuroki, T. (1985). Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 α , 25-dehydroxy vitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Res.*, 45, pp.1474-1478.
- 30) 奥田拓男(1986). 植物性分の 収斂作用. フレグランス ジャナル. No6. pp.270-274.
- 31) Lee, J.T., Jeong, Y.S., An, B.J. (2002). Physiological activity of *Salicornia herbacea* and Its application for Cosmetic materials. *Kor. J. Herbology* 17(2). pp.51-60.