J Korean Soc Food Sci Nutr
37(6), 696~700(2008)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2008.37.6.696

Gallic Acid와 Linoleic Acid로부터 합성한 Octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate의 유전독성학적 안전성 및 화장품 제형을 통한 생리 기능성 평가

정사무엘[1] · 송현파[1] · 이나영[2] · 장애라[3] · 조철훈[1†]

[1]충남대학교 동물자원생명과학전공
[2]전북대학교 식품공학과
[3]농촌진흥청 축산과학원 축산물이용과

Genotoxicological Safety of Octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate from Gallic and Linoleic Acids and Its Biological Functions in Cream-based Emulsion

Samooel Jung[1], Hyun-Pa Song[1], Na Young Lee[2], Aera Jang[3], and Cheorun Jo[1†]

[1]*Dept. of Animal Science & Biotechnology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea*
[2]*Dept. of Food Science and Biotechnology, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea*
[3]*Quality Control and Utilization Division, National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-706, Korea*

Abstract

The objective of this study was to investigate the genotoxicological safety and biological functions of octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate (GA-LA) in cream-based emulsion for future application as a functional cosmetic material as well as food. GA-LA was synthesized chemically from gallic acid and linoleic acid. The Ames test showed that GA-LA did not have mutagenical toxicity. The control cream-based emulsion containing GA-LA was prepared by commercial method and tested for 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) and inhibition effect against tyrosinase of the emulsions were tested for the evaluation of antioxidative and skin-whitening activities. The results showed that DPPH radical scavenging activity in the cream-based emulsion containing GA-LA was higher (52.65%) than that of the control (4.30%). The FRAP value of the sample was 12.85%, however, no activity was found in control. The inhibition effect of tyrosinase showed also a higher value (26.29%) when compared to the control. The results indicate that GA-LA, which showed superior antioxidative and skin-whitening activities in cream-based emulsion, is a useful functional material applicable in cosmetic products as well as food.

Key words: octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate, antioxidative, skin-whitening, genotoxicological safety

서 론

여성의 사회적 진출이 확장되고 삶의 질이 향상됨에 따라서 화장품 산업은 단순히 사람의 외적 모습을 가꾸다기보다는 인체의 욕구를 만족시키는 고부가가치 산업으로 성장하고 있다. 이러한 사회적 추세에 따라 화장품산업 또한 기능성 화장품의 생산이 활발하게 이루어지고 있는 실정이다(1).

기능성 화장품은 피부의 미백, 자외선으로부터 피부보호, 주름의 개선 등에 효과가 있는 성분들을 포함하고 있는 화장품으로 단순히 얼굴만을 꾸미는 것이 아니라 피부 자체를 개선시키려는 최근의 트렌드와 노화 방지에 대한 관심 증대에 따라 점점 다양해지고 그 판매량도 증가하고 있다. 하지만 기능성 화장품에 사용되는 항산화제의 경우 피부에 부작용이 없으며 화장품 제조에 쓰이는 여러 물질들과의 조화가 우수하여야 하고 외부조건에 대하여 안정하여야 하는데 기존의 합성 항산화제의 경우 항산화 효과가 우수하고 제형 내 안정성 또한 우수하지만 일부 독성물질이 부각되면서(2) 사용이 제한되고 있다. 따라서 천연물로부터 추출되어지는 천연 항산화제가 두각을 나타내고 있지만 천연 항산화물질의 경우 자체 안정성이 떨어져 기능성 화장품으로 이용에 다소 어려운 부분이 있다(3). 이러한 이유로 천연물에서 유래한 천연 항산화물질이 연구되고 있으며(4) 독성이 없으면

†Corresponding author. E-mail: cheorun@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-5774, Fax: 82-42-825-9754

서 우수한 항산화 능력을 가진 합성 항산화물질에 관한 연구도 함께 이루어지고 있다(5).

기능성 화장품들은 주로 항산화 기능으로 주목을 받고 있으며 이와 함께 피부 미백 기능 또한 다른 기능성에 비해 중요시 여겨지고 있다(1). 피부미백 기능은 체내의 멜라닌 생성과 관계되어 있는데 멜라닌은 인체의 피부에 존재하여 자외선과 세포독성 물질의 제거로 피부를 보호하는 역할을 하는 반면 멜라닌이 과량 생산되면 다량의 멜라닌이 각질형성세포에 전달되어 색소침착 현상이 과하게 되어 피부의 노화 및 피부암의 유발 등에 관여하는 것으로 보고되고 있다(6). 이러한 이유로 멜라닌의 색소침착은 미용적인 면에서도 중요시 여겨지면서 멜라닌의 생성을 억제하는 연구가 진행되고 있다.

Gallic acid는 페놀성 물질로서 항산화(antioxidation), 항염증(antiinflammatory), 항돌연변이(antimutagenic), 항알러지(antiallergic) 등의 능력을 갖고 있으며(7) 지방의 산화로 인하여 발생하는 악취와 산패를 방지하는 항산화물질로 간주되면서 화장품에 첨가되기 시작하였다(8). 하지만 gallic acid를 단독으로 사용하였을 때 DNA 손상에 의하여 발생하는 산화촉진 작용과 같은 피부 교란과 세포독성의 결과를 낳는다고 보고되고 있다(9).

Linoleic acid는 필수지방산의 하나로 탄소 18개와 2개의 이중결합을 갖고 있으며 interleukin(IL)-6와 -1β의 분비를 감소시켜 항염증 효과를 나타낼 수 있다(10).

따라서 본 연구에서는 각기 다른 기능을 가진 gallic acid와 linoleic acid로부터 합성되어진 octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate(GA-LA)의 유전 독성학적 안전성을 확인하고, 항산화 능력과 피부 미백효과를 위한 tyrosinase 활성 억제 능력을 크림 베이스 유화물을 이용하여 확인하여 식품산업뿐만 아니라 기능성 화장품산업에서의 이용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

시약

본 실험에 사용된 gallic acid, linoleic acid ethyl ester, diisobutyl-aluminum hydride (DIBAL-H), tetrahydrofuran(THF), mushroom tyrosinase, α,α′-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH), 4-nitroquinoline-1-oxide(4-NQO), 2-aminoanthracene(2-AA) 및 dimethylsulfoxide(DMSO)은 Sigma 사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 2,4,6-tripyridyl-2-triazine(TPTZ), tryptic soy agar 및 total plate count agar는 Difco사(Difco, Laboratories, Sparks, MD, USA)에서, eosin methylene blue agar 및 oxoid nutrient broth No 2는 Oxoid사(Oxoid, Basingstoke, UK)에서 구입하였다. 그리고 cofactor는 Wako사(Lot No. 999902, Tokyo, Japan), S-9은 Oriental yeast사(Ltd., Lot No. 0042101, Tokyo, Japan)에서 각각 구입하여 사용하였다.

합성

GA-LA의 합성은 Jo 등(11)의 방법에 따라 진행하였다. 합성의 순서는 먼저 linoleic acid methyl ester로부터 octadeca 9,12-diene-ol을 합성하고 그 후에 GA-LA를 합성하는 순서로 하였다. 합성된 물질은 NMR spectroscopy와 FT-IR (Tensor 37, Bruker, Germany)에 의해 확인하였으며 물질의 성상은 옅은 황색 가루로 나타났고 수율은 85%였다.

^{1}H NMR(300 MHz, $CDCl_3$)δ0.91(t,*J*=6.8Hz,3H,H18),1.31(m,16H,H3-7,H15-17), 1.72(m,2H,H2),2.06(m,4H,H8,H14), 2.79(dd,*J*=5.9,5.9Hz,2H,H11),4.26(t,*J*=6.4Hz,2H,-OCH_2),5.37(m,4H),7.28(s,1H,aromatic),7.30(s,1H,aromatic);IR ($CHCl_3$)3356,3008,2928,2855,1686,1613,1465,1395,1242,1184 cm^{-1}.

유전독성학적 안전성 평가

GA-LA의 유전독성학적 안전성은 Maron과 Ames(12)의 방법으로 실시하였다. 실험에 사용된 균주인 *Salmonella* Typhimurium TA 98과 TA 100은 Molecular Toxicology Inc.(Boone, NC, USA)에서 구입하여 형질을 확인한 후 한국화학연구소 안전성센터(KRICT, Daejeon, Korea)에서 계대배양 중인 것을 분양받았다. 이들 균주는 사용에 앞서 균주의 유전자형 확인을 위해 histidine 요구성, UV에 대한 민감도(uvrB 돌연변이), deep rough(rfa) 특성 및 R-factor에 의한 ampicillin 또는 tetracycline 내성 등의 유전형질을 확인한 후 nutrient broth No. 2(Oxoid)에 접종하여 37°C에서 200 rpm으로 약 10시간 진탕 배양(Vision Scientific Co., Inchon, Korea)하여 대수기(2×10^9 cells/mL)에 이르렀을 때 실험에 사용하였다. 대사활성계 적용을 위해 Sprague-Dawley 랫트에서 분리한 S-9 분획과 시판 cofactor를 이용하여 S-9 mix를 조제하여 사용하였다. 음성 대조군은 용매를 사용하였으며, 양성 대조군은 대사활성계 적용 시 2-AA를 0.4 μg/plate 농도로, 대사활성계 미적용 시 4-NQO 및 SA를 각각 0.5 μg/plate 농도로 사용하였다. 각각의 시료는 3개의 agar plate로부터 얻은 colony 수의 평균과 표준편차로 나타내었고 복귀돌연변이 집락수가 농도 의존적이면서 용매대조군의 2배 이상인 경우를 양성으로 하였다.

크림 베이스 유화물의 제조

크림 베이스 유화물은 기 회사 제품과 유사한 방법으로 Table 1과 같이 제조하였다. 농후제와 수용성 물질은 75°C에서 용해시키고 지용성 물질은 70°C에서 용해시킨 후 완전히 용해된 농후제와 수용성 물질을 혼합하고 지용성 물질을 농후제와 수용성 물질 혼합액에 첨가한 후 30분 동안 교반하여 유화물로 만들어 45°C까지 냉각시켰다. 냉각된 유화물에 GA-LA를 1% 첨가 혼합한 후 시료의 생성된 거품을 제거하고 100 mL 플라스틱 용기에 옮겨 실험을 실시하였다.

Table 1. Composition of cosmetic emulsion containing octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate (GA-LA)

Separation	Mixing agent	Content (%)	
		Control[1)]	GA-LA[2)]
Whitening agent	GA-LA	-	1.00
	Solvent	3.00	3.00
Thickener	Viscosity controller	0.75	0.75
	Solvent	30.00	30.00
Water soluble agents	Moisturizer	7.02	7.02
	Sequestering agent	0.02	0.02
	Solvent	40.01	39.01
Lipid soluble agents	Emulsifier	0.50	0.50
	Emulsification stabilizer	1.00	1.00
	Assistance stabilizer	0.50	0.50
	Gelling agent	1.20	1.20
	Flexible agent	15.20	15.20
	Antioxidative agent	0.10	0.10
Additives	Preservative	0.60	0.60
	Variegated flavor	0.10	0.10

[1)]GA-LA was not added.
[2)]GA-LA was added at a 1% concentration level.

항산화 효과

전자공여능: 전자공여능은 Blois(13)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 크림 베이스 유화물은 에탄올을 이용하여 희석하였으며 희석된 시료 1 mL에 0.2 mM α,α′-diphenyl-β-picryl-hydrazyl(DPPH) 1 mL을 넣고 교반하여 30분 동안 실온에서 반응시킨 후 분광광도계(UV 1600 PC, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능의 계산은 다음 식을 이용하였다.

$$\text{전자공여능}(\%) = \left(-\frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$$

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 측정: FRAP 실험은 Benzie와 Strain(14)의 방법에 따라 측정하였다. FRAP 시약은 40 mM HCl 용액에 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazine(TPTZ) 용액 2.5 mL을 첨가한 후 20 mM $FeCl_3$ 2.5 mL과 pH 3.6의 0.3 M acetate 완충용액 25 mL을 첨가하여 제조하였다. 시료 30 μL에 FRAP 시약 900 μL과 증류수 90 μL을 첨가하여 혼합한 후 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후에 혼합물의 흡광도를 분광광도계를 이용하여 595 nm에서 측정하였다.

Tyrosinase 활성 억제능: GA-LA가 함유된 크림 베이스 유화물의 피부 미백 효과를 간단하게 알아보기 위하여 tyrosinase 억제 능력을 Jimenez 등(15)과 Yokochi 등(16)의 방법을 혼용하여 측정하였다. 시료 용액에 10 mM L-3,4-dihydroxyphenyl-alanine(L-DOPA)을 녹인 기질액과 1/15 M sodium phosphate 완충용액(pH 6.8) 및 mushroom tyrosinase(100 unit/mL)를 혼합하여 혼합액을 25°C에서 15분 동안 반응시킨 후 이 반응혼합액에서 생성된 dopachrome을 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 측정하였다.

$$\text{Tyrosinase 활성 억제능}(\%) = \{(\text{무처리구의 흡광도} - \text{처리구의 흡광도})/\text{무처리구의 흡광도}\} \times 100$$

통계분석

이 실험의 data는 SAS software version 7(17)을 사용하여 one-way 분산분석을 시행하였고 Duncan의 다중검정을 사용하여 평균값간의 차이를 비교하였다. Data는 각 실험을 3반복 수행하여 3개의 실험 data의 평균값으로 나타내었으며, 평균과 표준편차를 표시하였고 유의적인 차이는 5% 수준에서 평가하였다.

결과 및 고찰

유전독성학적 안전성

GA-LA의 유전독성학적 안전성을 확인하기 위하여 *Salmonella* Typhimurium TA 98과 TA 100에서의 복귀변이 집락수를 조사하였다(Table 2, 3). 시료를 이용한 예비실험 결과에 따라 5,000 μg/plate를 최고 농도로 하여 실시하였다. 각 실험에서 음성대조군의 복귀변이 집락수는 문헌치(12)의 범위 이내였고, 양성대조 화합물에 의해 복귀변이 집락수가 현저히 증가하여 본 실험이 적합하게 행하여졌음을

Table 2. Revertant colonies in *S.* Typhimurium TA 98 reversion assay with octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate (GA-LA)

Samples	Concentration (μg/plate)	No. of revertant colonies (His+) per plate	
		TA 98 (-S9)	TA 98 (+S9)
GA-LA	5,000	11.5±6.36	26.0±1.41
	2,500	12.0±5.66	21.5±2.12
	1,250	18.5±9.19	25.5±0.71
	625	23.0±7.07	24.5±3.54
DMSO		20.3±8.08	40.0±3.00
4-NQO	0.5	634±79.22	
2-AA	0.4		1663±166.14

Abbreviations: DMSO, dimethyl sulfoxide; 4-NQO, 4-nitroquinoline-1-oxide; 2-AA, 2-aminoanthracens.

Table 3. Revertant colonies in *S.* Typhimurium TA 100 reversion assay with octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate (GA-LA)

Samples	Concentration (μg/plate)	No. of revertant colonies (His+) per plate	
		TA 100 (-S9)	TA 100 (+S9)
GA-LA	5,000	219.0±5.66	294.0±11.31
	2,500	247.0±15.56	266.0±5.66
	1,250	246.0±33.94	339.0±9.90
	625	285.5±24.75	297.0±15.56
DMSO		302.0±15.62	277.3±6.11
SA	0.5	757.3±45.49	
2-AA	0.4		1251.0±85.25

Abbreviations: DMSO, dimethyl sulfoxide; SA, sodium azide 2-AA, 2-aminoanthracens.

Table 4. Biological functions of octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate (GA-LA)

Evaluation	Concentration (%)	Control	GA-LA[1)]
1,1-Diphenyl-2-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity (%)	0.1	4.30±6.621[b]	52.65±1.663[a]
Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) assay (mM/g)	1	–[2)b]	12.85±0.336[a]
Tyrosinase inhibition activity (%)	2.5	–[b]	26.29±5.310[a]

[1)]GA-LA: Cream-based emulsion containing GA-LA.
[2)]Activity was not detected.
[a,b]Means with the same letter in each row are not significantly different ($p<0.05$).

확인하였다. 대사활성을 시킨 경우와 시키지 않은 경우 모두에서 GA-LA에 의한 각 균주의 복귀돌연변이 집락수의 농도 의존적인 증가 혹은 감소를 보이지 않았다. 일반적으로 돌연변이원성의 유무는 음성대조구 복귀변이 집락수의 2배 이상이면서 농도 의존적인 경우를 양성으로 판정하므로 본 실험의 GA-LA가 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 확인하였다. 본 실험방법을 역으로 이용하여 항돌연변이원성을 평가한 결과 gallic acid와 linoleic acid가 합성되어 만들어진 GA-LA는 gallic acid와 tocopherol보다 강한 유전독성학적 안정성을 보이며 이는 gallic acid와 linoleic acld의 합성에 의하여 상승효과가 발생하였다고 Jang 등(18)이 보고하였다. 이런 결과들로 봤을 때 GA-LA는 유전독성학적 안전하여 기능성식품뿐만 아니라 화장품 물질로서 이용이 가능할 것으로 생각된다.

항산화 효과

크림 베이스 유화물에 gallic acid와 linoleic acid를 합성한 octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate(GA-LA)의 항산화 능력을 측정하기 위하여 DPPH radical에 대한 전자공여능과 FRAP를 이용한 환원력을 측정하였다. 크림 베이스 유화물에 GA-LA를 0.1% 농도로 처리하였을 경우 52.6%의 전자공여능을 보여 비처리군(control)의 4.3%에 비하여 높은 항산화 활성을 보였으며(Table 4), 또한 FRAP value에서도 GA-LA를 크림 베이스에 1% 처리하였을 경우 비처리구에 비해 높은 환원력을 확인할 수 있었다(Table 4). Jo 등(11)은 GA-LA의 전자공여능이 0.24 mM의 농도에서 95.7%에 이르면 이는 gallic acid나 ascorbic acid와 비교할 때 유사하다고 발표하였다. 그러나 0.024 mM의 농도에서 GA-LA가 gallic acid에 비해 상대적으로 낮게 나타났으며, Jang 등(18)에 의하면 GA-LA가 gallic acid에 비하여 항산화성이 낮지만 linoleic acid와 tocopherol에 비하여서는 항산화성이 높다고 보고하였다. 피부노화는 기본적으로 산화에 의해 발생한다고 볼 수 있으며 첨가 물질의 항산화 능력은 피부세포의 건강을 지켜줄 수 있다(19). GA-LA는 또한 cyclooxygenase 저해 활성을 나타내어 항염증 활성에도 도움이 된다는 보고(11)와 함께, 이것으로 보아 GA-LA는 화장품산업에 있어서 유용하게 쓰일 수 있을 것으로 생각된다. 이와 더불어 최근 Jang 등(20)은 고지방식이를 급여한 마우스에 1%의 GA-LA, gallic acid, linoleic acid 및 gallic acid와 linoleic acid를 단순히 혼합(칵테일)한 형태로 첨가 급여하였을 때 7주 후 GA-LA 첨가구와 대조구(고지방식이 비급여구)의 체중이 고지방식이 급여구에 비해 유의적으로 감소하였으며, 중성지방과 LDL 콜레스테롤의 함량은 고지방식이 급여구에 비해 처리구 모두에서 유의적으로 감소하였다고 보고하였다. 또한 7주후 희생된 마우스의 간 조직검사를 통하여 간에의 지방축적이 처리구에서 모두 감소하였으며, 특히 GA-LA 첨가구는 복부지방세포의 크기를 유의적으로 감소시킨 것으로 나타났다. 이로 인하여 GA-LA는 지방대사 조절을 통한 지방축적 억제효과도 있을 가능성이 큰 것으로 판단된다.

Tyrosinase 활성 억제능력

피부 미백제의 개발에 있어 tyrosinase의 저해 활성은 매우 중요하며, 미백관련 화장품산업과 새로운 미백상품개발에 있어 많이 사용되고 있는 실험 방법 중 하나이다(21). Tyrosinase가 동식물류에서 멜라닌 생합성의 중요 효소로 작용한다고 알려지면서 tyrosinase의 활성 억제가 멜라닌 색소형성을 억제하는데 유용하게 쓰일 것으로 연구되어왔다(22). GA-LA의 tyrosinase 활성 억제능력을 알아보기 위하여 크림 베이스 유화물에 GA-LA를 2.5% 농도로 처리한 결과 26.29%의 tyrosinase 활성 억제능력을 보인 반면, GA-LA를 처리하지 않은 비처리군(control)에서는 어떤 효과도 보이지 않았다(Table 4). 크림 베이스 유화물이 아닌 GA-LA 단독으로는 1.2 mM의 농도에서 약 90.9%의 억제력을 보였으며 이는 gallic acid나 ascorbic acid의 활성보다 유의적으로 높았다(11). 또한 Jang 등(18)의 보고에 따르면 GA-LA의 tyrosinase 활성 억제능력은 gallic acid, linoleic acid 및 tocopherol보다 높았다. 이런 결과를 종합해 볼 때 GA-LA 합성에 의한 tyrosinase 활성 억제에 상승효과가 있는 것으로 사료된다. 크림 베이스 유화물을 이용한 본 연구결과에 따라 GA-LA는 식품산업에서 기능성 소재로 쓰일 수 있을 뿐만 아니라 미백효과 등 기능성 화장품산업에 있어서 유용하게 쓰일 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

Gallic acid와 linoleic acid의 합성물인 octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-trihydroxybenzoate(GA-LA)의 화장품산업에서의 이용 가능성을 알아보기 위하여 유전독성학적 안전성

을 확인하고 크림 베이스 유화물을 사용하여 전자공여능, FRAP 및 tyrosinase 활성 억제능력과 같은 GA-LA의 생리기능성 실험을 실시하였다. 그 결과 유전독성학적 안전성이 확인되었고, 산화에 의한 피부의 노화를 억제하기 위한 항산화 능력과 미백과 관련된 tyrosinase 활성 억제 능력이 있음이 확인되었다. 따라서 GA-LA는 식품산업뿐만 아니라 화장품산업에서 유용한 기능성 물질로 쓰일 수 있을 것이라고 생각되어진다.

감사의 글

이 논문은 2007년도 정부(과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구입니다(No. R01-2007-000-10753-0).

문 헌

1. Kim EK, Lee HB. 2007. Functional cosmetics-Skin whitening. *News and Information for Chem Eng* 25: 138-143.
2. Branen AL. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCS* 52: 59-63.
3. Haumann BF. 1990. Antioxidants: Firms seeking products they can label as 'natural'. Inform. p 1, 1002.
4. An BJ, Lee JT, Lee CE, Kim JH, Son JH, Kwak JH, Lee JY, Paek TS, Bae HJ, Jang MJ, Jo CH. 2005. A study on physiological activity of coptidis rhizoma and application for cosmetic ingredients. *Korean J Herbol* 20: 83-92.
5. Lee NY. 2007. Development of gallic acid-conjugated linoleic acid ester as novel functional materials and its biological activity. *PhD Dissertation*. Chonbuk National University, Korea.
6. Urabe K, Aroca P, Tsukamoto K, Mascagna D, Paulumbo A, Prota G, Hearing VJ. 1994. The inherent cytotoxicity of melanin precursors. *Biochem Biophys Acta* 1221: 272-278.
7. Negi AS, Darokar MP, Chattopadhyay SK, Garg A, Bhattacharya AK, Srivastava V, Khanuja PS. 2005. Synthesis of a growth promoter from gallic acid. *Bioorg Medic Chem Let* 15: 1243-1247.
8. Nakagawa Y, Moldeus P, Moore G. 1997. Propyl gallate induced DNA fragmentation in isolated rat hepatocytes. *Arch Toxicol* 72: 33-37.
9. Yoshino M, Haneda M, Naruse M, Htay HH, Iwata S, Tsubouchi R, Murakami K. 2002. Prooxidant action of gallic acid compound: copper-dependent strand breaks and the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA. *Toxicol Vitro* 16: 705-709.
10. Zhao G, Etherton TD, Martin KR, Vanden Heuvel JP, Gillies PJ, West SG, Kris-Etherton P. 2005. Anti-inflammatory effects of polyunsaturated fatty acids in THP-1 cell. *Biochem Biophys Res Comm* 336: 909-917.
11. Jo C, Jeong IY, Lee NY, Kim KS, Byun MW. 2006. Synthesis of a novel compound from gallic acid and linoleic acid and its biological functions. *Food Sci Biotechnol* 15: 317-320.
12. Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* 113: 173-215.
13. Blois MS. 1958 Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1190-1200.
14. Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.
15. Jimenez M, Chazarra S, Escribano J, Cabanes J, Garcia-Carmona F. 2001. Competitive inhibition of mushroom tyrosinase by 4-substituted benzaldehydes. *J Agric Food Chem* 49: 4060-4063.
16. Yokochi N, Morita T, Yagi T. 2003. Inhibition of dephenolase activity of tyrosinase by vitamin B6. *J Agric Food Chem* 51: 2733-2736.
17. SAS Institute, Inc. 1989. SAS User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
18. Jang A, Lee NY, Lee BD, Kim TH, Son JH, An BJ, Jo C. 2008. Biological functions of a synthetic compound, octadeca-9,12-dienyl-3,4,5-hydroxybenzoate, from gallic acid-linoleic acid ester. *Food Chem* doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.074.
19. Wang KH, Lin RD, Hsu FL, Huang YH, Chang HC, Huang CY, Lee MH. 2006. Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines. *J Ethnopharmacol* 106: 353-359.
20. Jang A, Srinivasan P, Lee NY, Song HP, Lee JW, Lee M, Jo C. 2008. Comparison of hypolipidemic activity of synthetic gallic acid-linoleic acid ester with mixture of gallic acid and linoleic acid, gallic acid, and linoleic acid on high fat diet induced obesity in C57BL/6 Cr Slc mice. *Chemico-Biol Interact* doi:10.1016/j.cbi.2008.05.018.
21. Cabanes J, Chazarra S, Garcia-Carmona F. 1994. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J Pharm Pharmacol* 46: 982-985.
22. Masamoto Y, Ando H, Murata Y, Shimoishi Y, Tada M, Takahata K. 2003. Mushroom tyrosinase inhibitory activity of esculetin isolated from seeds of *Euphorbia lathyris* L. *Biosci Biotechnol Biochem* 67: 631-634.

(2008년 3월 18일 접수; 2008년 6월 3일 채택)