

## Acteoside와 Isoacteoside의 항산화 작용 및 미백 효과

윤미연 · 심상수 · 황완균 · 최병철<sup>#</sup>

중앙대학교 약학대학

(Received October 7, 2008; Revised October 25, 2008; Accepted January 15, 2009)

### Antioxidant Activity and Whitening Effects of Acteoside and Isoacteoside

Mi Yun Yoon, Sang Soo Sim, Wan Kyun Whang and Byung-Chul Choi<sup>#</sup>

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

**Abstract** — This study was performed to investigate the effects of acteoside and isoacteoside isolated from *Clerodendron trichotomum Thunberg* on melanin production in B16 melanoma cells. In DPPH radical scavenging activity, acteoside and isoacteoside had a potent anti-oxidant activity in a dose-dependent manner. Both acteoside and isoacteoside dose-dependently inhibited silica-induced ROS (reactive oxygen species) generation in B16 melanoma cells. They significantly inhibited tyrosinase activity and melanin production in MSH-stimulated B16 melanoma cells. The inhibitory effect of acteoside was more potent than that of isoacteoside. In Western blot of tyrosinase, acteoside inhibited MSH-induced tyrosinase expression in B16 melanoma cells, which is related to the inhibitory action of acteoside on tyrosinase activity and melanin production. These results show that acteoside and isoacteoside from *Clerodendron trichotomum Thunberg* has a potent antioxidant activity and whitening activity. The underlying mechanism of acteoside on whitening activity may be due to the inhibition of tyrosinase activity and tyrosinase expression.

**Keywords** □ acteoside, melanin, tyrosinase, isoacteoside

Melanin은 사람의 피부색을 결정하는 물질로서 자외선을 차단하여 인체를 보호하는 작용을 한다. Melanin 합성에 있어 중요하게 작용하는 효소는 구리를 함유하고 있는 tyrosinase로서 생체 내 tyrosine을 DOPA를 거쳐 DOPA quinone으로 산화되는 과정을 촉매하여 melanin 생합성에 관여한다. 또한 갈색과 흑색의 색소를 만들어 내는 eumelanogenesis에는 적어도 두 가지 이상의 효소가 관여하는데 그것은 TRP-1(DHICA oxidase)과<sup>1)</sup> melanin 중간체인 DOPA chrome으로부터 5,6-dihydroxy indole-2-carboxylic acid(DHICA)의 반응을 촉매하는 TRP-2 (DOPA chrome tautomerase)이다.<sup>2)</sup> 미백제의 개발에 있어 멜라닌 생성을 억제하는 경로와 이미 생성된 melanin의 분해를 촉진하는 단계에 관여하는 효소의 활성 조절이 중요시 되고 있다.

누리장나무 잎에서 추출한 성분 중 acteoside와 isoacteoside는 phenylpropanoid glycoside의 일종으로, 이들은 다양한 약리

적, 생물학적인 활성적 특징을 나타낸다.<sup>3)</sup> 특히 항산화<sup>4)</sup> 및 항염증 작용에<sup>5)</sup> 대한 연구가 많이 보고되었다. 식물에서 많이 존재하고 있는 acteoside를 포함한 phenylpropanoid 화합물은 오래전부터 염증에 관련된 질병 치료에 사용되었다.<sup>6)</sup> Acteoside를 이용한 항염증 실험에서 염증 매개물질인 prostaglandin E<sub>2</sub>, leukotriene C<sub>4</sub>와 thromboxane B<sub>2</sub>의 생성을 농도 의존적으로 억제하였다.<sup>7)</sup> 또한 Raw 264.7 세포에서 lipopolysaccharide(LPS)에 의한 nitric oxide(NO) 생성과 reactive oxygen species (ROS) 생성도 유의하게 억제하였다.<sup>8)</sup> 유해산소를 제거하는 항산화제는 항염 효과뿐만 아니라 미백 효과도 있는 것으로 알려지고 있으며, 토코페롤(a-tocopherol)이나 아스코르빈산(ascorbic acid)과 같은 항산화제는 피부에서 색소침착을 억제 한다는 보고가 있다.<sup>9-11)</sup> 지금까지 acteoside에 대한 항염 효과는 보고된 바가 많지만 미백효과에 있어서는 예측할 수 있을 뿐 이에 대한 보고는 없는 실정이다. 그러므로 이 실험에서는 누리장나무 잎으로부터 분리한 acteoside와 isoacteoside를 이용하여 melanin 생성 및 활성산소 억제 작용을 통한 미백 효과와 피부 노화 억제에 미치는 영향을 관찰하였다.

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 02-3426-5664 (팩스) 02-816-7338  
(E-mail) choibych@unitel.co.kr

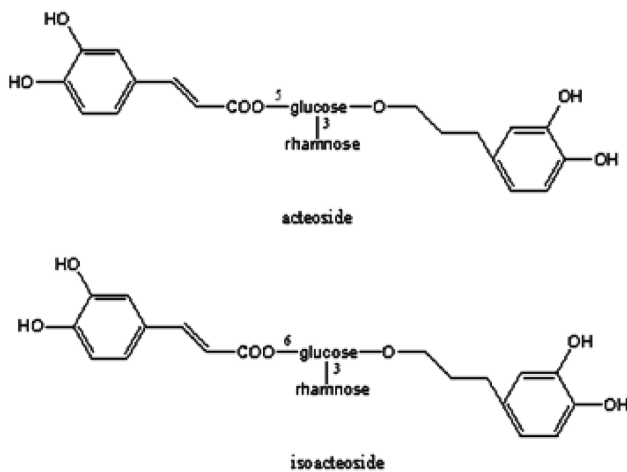


Fig. 1 - Structures of acteoside and isoacteoside isolated from *Clerodendron trichotomum* Thunberg.

## 실험 방법

### 재료

Tyrosinase, L-DOPA, melanin, 2',7'-dichlorofluorescin diacetate (DCF-DA),  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone(MSH)들은 Sigma chemical Co.(USA)로부터 구입하였다. Tyrosinase 항체는 Santa Cruz Biotechnology(USA)로부터, B16 melanoma 세포는 서울대학교 세포주 은행으로부터 구입하였다. 누리장나무 잎으로부터 분리한 acteoside와 isoacteoside의 구조는 Fig. 1에 표시하였으며 이는 중앙대학교 약학대학 황완균 교수로부터 기증 받아 실험하였다.

### 세포 배양

B16 melanoma 세포는 10% fetal bovine serum과 penicillin/streptomycin(100 IU/50  $\mu$ g/ml)을 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM) 용액으로 37°C로 유지되는 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다.

### 항산화 활성 측정

96 well plate에 에탄올에 녹인 0.1 mM DPPH 용액 180  $\mu$ l와 각 농도별로 조제한 acteoside 용액 20  $\mu$ l를 가하고 37°C에서 30분간 배양한 후 FL 600 spectrofluorometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 세포내 Reactive oxygen species(ROS) 정량

B16 melanoma 세포내에서 생성되는 산소라디칼(ROS)을 측정하기 위하여 2',7'-dichlorofluorescin diacetate(DCF-DA)를 이용하였다. B16 melanoma 세포를 15 ml의 Krebs buffer 용액(mM: NaCl 137, KCl 2.7, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.4, MgCl<sub>2</sub> 0.5, HEPES

[pH 7.4] 10, CaCl<sub>2</sub> 1.8, glucose 5)에 현탁시킨 후 20  $\mu$ M DCF-DA를 가하고 1시간 빛을 차단한 곳에서 배양하였다. DCF-DA가 없는 Krebs 용액으로 한번 세척한 후 10<sup>5</sup> cells/ml로 분주하고 acteoside와 isoacteoside를 처리한 후 30분간 배양하였다. 원심 분리 후 cell pellet을 200  $\mu$ l의 Krebs 용액에 분산시킨 후 형광(Ex: 485 nm; Em; 535 nm)을 측정하였다.<sup>12)</sup>

### 정제한 tyrosinase 활성 측정

100 mM(pH 6.8) sodium phosphate buffer에 tyrosinase를 2 unit/40  $\mu$ l의 농도로 희석시킨 후 tyrosinase 90  $\mu$ l와 acteoside와 isoacteoside 40  $\mu$ l를 혼합하고, 37°C에서 30분 동안 배양하였다. 96 well plate에 40  $\mu$ l씩 소분하고, 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.2)에 녹인 2 mg/ml L-DOPA 200  $\mu$ l를 가하여 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. Tyrosinase에 의해 생성된 DOPA chrome은 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.<sup>13)</sup>

### 세포내 tyrosinase 활성과 melanin 측정

B16 세포를 이용한 melanin 측정 시 phenol red가 없는 DMEM을 사용하였다. 6 well plate에 5 × 10<sup>4</sup> cells/ml로 분주하고 12시간이 지난 뒤 세포가 plate에 완전히 부착된 것을 확인한 후 acteoside와 isoacteoside를 10분간 전처리하였다. Melanin 생성을 촉진하기 위하여 1  $\mu$ M  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone(MSH)를 처리하고 72시간 지난 뒤에 melanin을 정량하였다. B16 세포에 약물 처리 후 배양이 끝나면 1%(w/v) Triton X-100을 함유한 10 mM phosphate buffer(pH 6.8)를 100  $\mu$ l를 가하고 5분간 shaking 한 후에 세포와 용액을 모두 eppendorf tube로 이전시키고 원심 분리하여 상층액은 tyrosinase 활성과 단백질 정량에 이용하고, cell pellet은 멜라닌 정량에 사용하였다. 96 well plate에 약물 처리 후 얻은 상층액 40  $\mu$ l를 분주하고 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.2)에 녹인 2 mg/ml L-DOPA 200  $\mu$ l를 가하여 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. Tyrosinase에 의해 생성된 DOPA chrome은 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.<sup>13)</sup> 순수하게 정제된 tyrosinase를 효소 활성의 표준 검량선으로 이용하여 산출하였다. Tyrosinase 활성을 측정하는 과정에서 얻은 pellet을 1 N NaOH 100  $\mu$ l와 증류수 200  $\mu$ l를 가하고 60°C에서 1시간 배양하여 멜라닌을 완전히 녹인 후 96 well plate에 200  $\mu$ l를 옮긴 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌 표준품으로 얻은 표준 검량선을 이용하여 각 well에서 생성된 멜라닌 양을 산출하였다. 멜라닌 생성량은 각 well에서 측정된 단백질 농도를 기준으로  $\mu$ g/mg protein으로 표기하였으며, tyrosinase 효소 활성은 unit/mg protein으로 표기하였다.

### Tyrosinase immunoblotting

MSH를 72시간 처리한 B16 melanoma cell을 extracting

buffer(1% Triton X-100을 함유한 0.1M sodium phosphate buffer, pH 6.8)를 가하여 세포를 파괴시키고 얻은 균질액을 8~20% SDS-PAGE를 이용하여 전기영동하고 nitrocellulose membrane으로 이전시켰다. 1% BSA를 함유한 Tris 완충용액에서 30분 이상 배양한 후 tyrosinase 항체와 alkaline phosphatase가 결합된 항체를 가한 후 alkaline phosphatase 기질 용액을 가하여 발색시켰다.

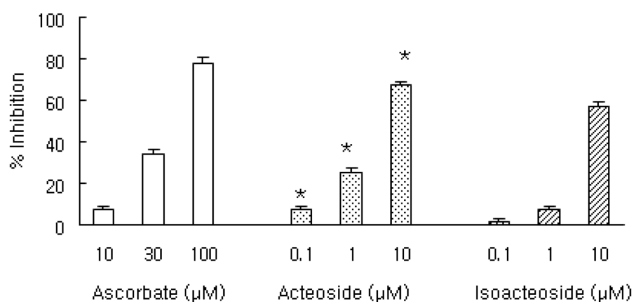
### 자료분석 및 통계적 검정

실험 결과는 평균±표준오차로 표기하였으며, 실험 성적은 non-paired Student's t test로 검정하였고 P 값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의하다고 간주하였다.

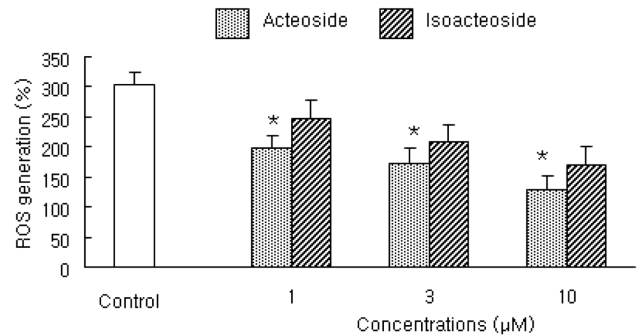
## 실험결과 및 고찰

### Acteoside와 isoacteoside의 항산화 작용

누리장나무 잎에서 분리한 acteoside와 isoacteoside의 항산화 작용을 DPPH 라디칼 소거 측정법을 이용하였다. Acteoside와 isoacteoside는 농도 의존적으로 DPPH 라디칼을 소거하였으며, 10 µM 농도에서 vitamin C의 7.1%보다 acteoside는 67.2%로 라디칼 소거작용이 크게 나타났다(Fig. 2). Acteoside의 DPPH 라디칼 소거 작용은 isoacteoside와 비교시 같은 농도에서 모두 유의하게 크게 나타났다. 지금까지 acteoside와 isoacteoside를 포함하는 phenylpropanoid 화합물들이 강력한 항산화 작용을 갖고 있다는 결과들이 많이 보고되었다.<sup>3,14)</sup> 이러한 시험관내에서 항산화 작용이 세포 수준에서도 항산화 작용을 나타내는지를 확인하기 위하여 B16 melanoma 세포를 이용하여 세포내 ROS 생성에 미치는 영향을 관찰하였다. 세포내에 과량의 ROS가 생성되면 염증반응을 일으키며 세포를 괴사시키지만 소량의 ROS는 오히려 세포의 신호 전달계에 있어서 중요한 역할을 담당하고 있



**Fig. 2** – Anti-oxidant activity of acteoside and isoacteoside in the DPPH assay. DPPH solution in ethanol (180 µl of 100 µM) was gently mixed with 20 µl of acteoside or isoacteoside for 30 min. The absorbance was measured at 517 nm. Results are means±SD from 3 separate experiments. \*Significantly different from isoacteoside at the same concentration (p<0.05).

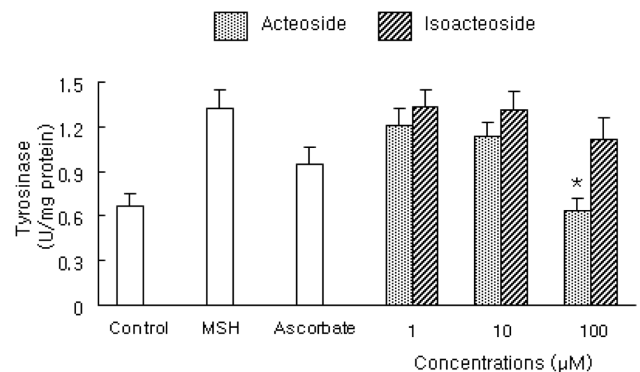


**Fig. 3** – Effects of acteoside and isoacteoside on silica (2 mg/ml)-induced reactive oxygen species (ROS) generation in B16 melanoma cells. Results are means±SD from 4 separate experiments. \* Significantly different from isoacteoside at the same concentration (p<0.05).

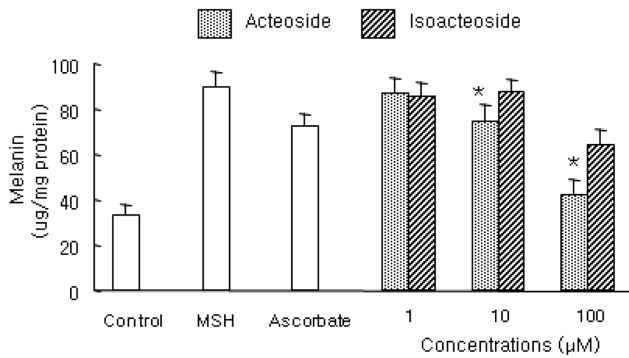
는 것으로 알려져 있다.<sup>15)</sup> Silica는 다양한 세포에서 세포내 ROS 생성을 일으키는 물질로 알려져 있다. B16 melanoma 세포에서 silica는 ROS 생성을 3배 정도 증가시켰다. 이러한 silica에 의한 ROS 증가는 acteoside와 isoacteoside에 의해 농도 의존적으로 억제되었다(Fig. 3). Silica에 의한 ROS생성에 있어 acteoside의 억제 효과는 isoacteoside보다 더 강하게 나타났다. 이러한 결과들로 미루어 볼 때 isoacteoside보다는 acteoside의 항산화 작용이 더 강하다는 것을 제시할 수 있다.

### B16 melanoma 세포에서 tyrosinase 활성과 melanin 생성에 미치는 영향

항산화 작용을 갖는 acteoside와 isoacteoside의 미백 작용을 확인하기 위하여 B16 melanoma 세포에서 MSH에 의한 melanin 생성과 tyrosinase 활성에 미치는 영향을 관찰하였다. B16



**Fig. 4** – Effects of acteoside and isoacteoside on tyrosinase activity in MSH-stimulated in B16 melanoma cells. The cells were incubated with acteoside, isoacteoside or ascorbate (100 µM) for 10 min and then stimulated with 1 µM MSH for 72 hrs at 37°C. Results are means±SD from 4 separate experiments. \* Significantly different from isoacteoside at the same concentration (p<0.05).



**Fig. 5** – Effects of acteoside and isoacteoside on MSH-induced melanin production in B16 melanoma cells. The cells were incubated with acteoside, isoacteoside or ascorbate (100 μM) for 10 min and then stimulated with 1 μM MSH for 72 hrs at 37°C. Results are means ± SD from 4 separate experiments. \* Significantly different from isoacteoside at the same concentration (p < 0.05).

melanoma 세포에서 MSH는 tyrosinase 활성을 2배 증가시켰다. 이러한 MSH에 의한 tyrosinase 활성 증가는 acteoside와 isoacteoside에 의해 유의하게 억제되었다(Fig. 4). Tyrosinase 활성 억제효과는 항산화 결과와 마찬가지로 acteoside가 isoacteoside 보다 더 강력한 것으로 나타났다. MSH에 의한 melanin 생성에 있어서도 tyrosinase 활성 억제효과와 유사한 결과가 나타났다(Fig. 5). acteoside는 농도 의존적으로 MSH에 의한 melanin 생성을 억제하였으며 100 μM 농도에서는 MSH 자극이 없는 안정수준까지 감소시켰다.

#### Acteoside와 isoacteoside가 정제한 tyrosinase 활성에 미치는 영향

Acteoside와 isoacteoside는 B16 melanoma 세포에서 tyrosinase 활성을 억제하였으며 melanin 생성도 억제하였다. 이러한 acteoside와 isoacteoside의 억제 작용 기전에서 melanin 생성에 있어서 중요하게 작용하는 tyrosinase 효소에 직접적으로 작용하는지를 확인하기 위하여 L-DOPA를 이용하여 정제한 tyrosinase 활성에 미치는 영향을 관찰하였다. tyrosinase 억제제

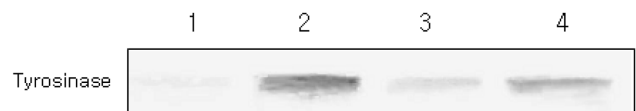
**Table I** – Inhibitory effects of acteoside and isoacteoside on purified tyrosinase activity

| Treatments   | Concentrations (μM) | Tyrosinase activity (% Change) |
|--------------|---------------------|--------------------------------|
| Control      | -                   | 100                            |
| Arbutin      | 100                 | 85.2 ± 1.4                     |
| Acteoside    | 1                   | 102.9 ± 1.8                    |
|              | 10                  | 104.9 ± 2.0                    |
|              | 100                 | 107.7 ± 1.8                    |
| Isoacteoside | 1                   | 98.1 ± 1.4                     |
|              | 10                  | 100.3 ± 1.5                    |
|              | 100                 | 115.7 ± 2.4                    |

로 알려진 arbutin은 tyrosinase 활성을 12% 억제하였으나 acteoside와 isoacteoside는 tyrosinase 활성에 이렇다 할 영향을 미치지 않았다(Table I). Tyrosinase 억제제로 알려진 arbutin은 tyrosinase 효소의 기질 결합 부위(L-tyrosine 혹은 L-DOPA)에 경쟁적 억제제로서 작용하는 것으로 알려져 있다.<sup>16)</sup> Arbutin (10 μM)은 tyrosinase 활성을 직접적으로 억제하였지만 acteoside compounds는 별다른 영향을 미치지 않았다. 그러나 다른 phenylpropanoid 화합물인 p-coumaric acid는 tyrosinase 활성 억제에 있어서 IC<sub>50</sub>가 3.65 mM로 보고 된 바가 있다.<sup>17)</sup> 이들이 사용한 농도는 이 실험에서 사용한 농도보다 36배나 높은 농도로서 생리적인 활성을 나타내는 농도를 넘어선 범위이다. 이 실험 결과로 미루어 볼 때 acteoside와 isoacteoside는 tyrosinase 활성에 직접적인 영향은 주지 않는 것으로 생각된다.

#### Tyrosinase immunoblot

Acteoside와 isoacteoside에 의한 tyrosinase 활성과 melanin 생성 억제가 B16 melanoma 세포에서 tyrosinase 발현과의 관계를 알아보기 위하여 tyrosinase 항체를 이용한 immunoblot를 수행하였다. Fig. 6에서 보듯이 MSH가 B16 세포에서 tyrosinase 활성과 melanin 생성을 증가시키는 것과 마찬가지로 tyrosinase의 발현을 증가시켰다. Acteoside와 isoacteoside를 전처리 시 MSH에 의한 tyrosinase 발현이 감소하였으며, 이러한 발현 억제는 isoacteoside보다는 acteoside에서 강하게 나타났다. 이러한 결과는 acteoside의 미백효과가 MSH에 의한 tyrosinase 발현과 밀접한 연관성이 있음을 보여준다. 최근 phenylpropanoid 화합물인 caffeic acid와 coumaric acid는 B16 melanoma 세포에서 tyrosinase 활성과 melanin 생성을 유의하게 억제하였지만 tyrosinase 발현에는 영향을 주지 않는 것으로 보고되었다.<sup>18)</sup> 그러나 acteoside는 MSH에 의한 melanin 생성과 tyrosinase 활성을 억제하며, 이러한 미백작용 기전은 tyrosinase 발현 억제와 밀접한 연관성이 있다는 것을 제시하여 준다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 acteoside와 isoacteoside는 항산화 작용이 강하며, melanocyte에서 melanin 생성을 억제하는 효과가 가장 강력한 acteoside는 미백제로서 개발 가능성이 있는 물질로 제시할 수 있다.



**Fig. 6** – Effect of acteoside and isoacteoside on tyrosinase expression in MSH-stimulated B16 melanoma cells. B16 cells were treated for 72 hrs with distilled water (lane 1), 1 μM MSH (lane 2), 100 μM acteoside plus 1 μM MSH (lane 3), and 100 μM isoacteoside plus 1 μM MSH (lane 4). Similar results were observed in three independent experiments.

## 결 론

누리장나무 잎에서 분리한 acteoside와 isoacteoside는 phenylpropanoid glycoside의 일종으로 B16 melanoma 세포에서 melanin 생성과 항산화 활성에 미치는 영향을 관찰하였다. Acteoside와 isoacteoside는 DPPH 라디칼 소거에 있어서 농도 의존적으로 억제하였으며, silica에 의한 세포내 ROS 생성도 acteoside와 isoacteoside는 농도 의존적으로 억제하였다. B16 melanoma 세포를 이용한 실험에서 acteoside는 MSH에 의한 melanin 생성과 tyrosinase 활성을 농도 의존적으로 억제하였으며, isoacteoside는 100  $\mu$ M 에서만 유의성 있게 억제하였다. Purified tyrosinase 활성에 있어서 acteoside는 이렇다 할 영향을 주지 못했지만, MSH에 의한 tyrosinase 발현에 있어서 acteoside는 tyrosinase 발현을 억제하였다. 이상의 모든 결과를 종합하여 볼 때, acteoside는 melanoma 세포에서 melanin 생성 억제효과도 강하게 나타나고 있으며, 이들의 미백 작용기전은 MSH에 의한 tyrosinase 활성 억제와 발현을 억제하는 과정과 연관성이 있는 것으로 사료된다.

## 참고문헌

- 1) Jimbow, K., Chen, H., Park, J. S. and Thomas, P. D. : Increased sensitivity of melanocytes to oxidative stress and abnormal expression of tyrosinase-related protein in vitiligo. *Br. J. Dermatol.* **144**(1), 55 (2001).
- 2) Jackson, I. J., Chambers, D. M., Tsukamoto, K., Copeland, N. G., Gilbert, D. J., Jenkins, N. A. and Hearing, V. A. : Second tyrosinase-related protein, TRP-2, maps to and is mutated at the mouse slaty locus. *EMBO J.* **11**(2), 527 (1992).
- 3) Takamasa, O., Makoto, I., Yukio, O. and Iclal, S. : Atimetastatic activity of Acteoside, a Phenylethanoid Glycoside. *Biol. Pharm. Bull.* **25**(5), 666 (2002).
- 4) Lee, S. H., Park, J. S., Kim, S. Y., Kim, J. J. and Chung, S. R. : Isoation of inhibitory components on tyrosinase activity from the bark of *paonia moutan*. *Yakhak Hoeji* **42**(4), 353 (1998).
- 5) Morita, N., Arisawa, M., Ozawa, H., Chen, C. S. and Kan, W. S. : Clerodendroside, a new glycoside from the leaves of *Clerodendron trichotomum Thunb. var. fargesii Rehd. (verbenaceae)*. *Yakugaku. Zasshi* **97**, 976 (1997).
- 6) Deepak, M., Umashankar, D. C. and Handa, S. S. : Verbascoside a promising phenylpropanoid. *Indian Drugs.* **36**, 336 (1999).
- 7) Ana, M. D., Maria, J. A., Lidia, F., Ana, M. S., Javier, D. S. and Paulina, B. : Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scorodonia* in vitro anti-inflammatory activity. *Life. Sci.* **74**, 2515 (2004).
- 8) Xiong, Q., Tezuka, Y., Kaneko, T., Li, H., Le, Q. T., Koji, H., Tsuneo, N. and Shigetoshi, K. : Inhibition of nitric oxide by phenylethanoids in activated macrophages. *Eur. J. Pharmacol.* **400**, 137 (2000).
- 9) Prakash, C. : Involvement of reactive oxygen species in the oxidation of tyrosinase and DOPA to melanin and in skin tanning. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **142**, 265 (1987).
- 10) Thbin, D. and Thody, A. J. : The superoxide anion may mediate short but not long term effects of ultraviolet radiation on melanogenesis. *Exp. Dermatol.* **3**, 99 (1994).
- 11) Funasaka, Y. and Chakraborty, A. K. : The depigmenting effect of alpha-tocopheryl ferulate on human melanoma cells. *Br. J. Dermatol.* **141**, 20 (1998).
- 12) Boland, A., Delapierre, D., Mossay, D., Hans, P. and Dresse, A. : Propofol protects cultured brain cells from iron ion-induced death: comparison with trolox. *Eur. J. Pharmacol.* **404**, 21 (2000).
- 13) Ohkura, T., Yamashita, K., Mishima, Y. and Kobata, A. : Purification of hamster melanoma tyrosinase and structural studies of their asparagine-linked sugar chains. *Arch. Biochem. Biophys.* **15**, 235(1) (1984).
- 14) Veronique, S., Mathieu, V., Yoann, M., Francois, T., Jean, C. F., Patrick, D., Francois, B. and Elisabeth, T. : Phenylpropanoids from *ballota nigra L.* Inhibit in vitro LDL peroxidation. *Phytother. Res.* **14**, 93 (2000).
- 15) Forman, H. J. and Torres, M. : Redox signaling in macrophages. *Mol. Aspects. Med.* **22**(4-5), 189 (2001).
- 16) Maeda, K. and Fukuda, M. : Arbutin mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **276**(2), 765 (1996).
- 17) Lim, J. Y., Ishiguro, K. and Kubo, I. : Tyrosinase inhibitory p-coumaric acid from ginseng leaves. *Phytother. Res.* **13**(5), 371 (1999).
- 18) Park, Y. M., Yoon, M. Y., Kim, K. W., Cho, N. Y., Lim, H. W., Lee, J. Y., Lee, J. H., Kim, Y. J., Kim, C. J. and Sim, S. S. : Effects of phenylpropanoid compounds on melanin production in B16 melanoma cells. *Yakhak Hoeji* **47**(6), 398 (2003).