

인삼잎으로부터 분리된 진세노사이드 F₁의 Elastase 및 Tyrosinase 억제 효과

홍세철 · 유남희 · 유지현 · 이건희 · 김보람 · 이호주 · 김종민 · 성낙술 · 표미경*
(재)금산국제인삼약초연구소

Inhibitory Effect of Elastase and Tyrosinase of Ginsenoside F₁ Isolated from *Panax ginseng* Leaves

Se Chul Hong, Nam Hee Yoo, Ji Hyun Yoo, Kun Hee Lee, Bo Ram Kim, Ho Joo Lee,
Jong Min Kim, Nak Sul Seong and Mi Kyung Pyo*
International Ginseng & Herb Research Institute, Geumsan, 312-804, Korea

Abstract – This study was carried to establish a simple isolation and purification method of ginsenoside F₁ from leaves of *Panax ginseng* and was to evaluate the inhibitory effect of purified ginsenoside F₁ on the activities of elastase and tyrosinase. The content of ginsenoside F₁ was 90-fold higher in leaves than in root of ginseng. Ginsenoside F₁ was isolated from EtOAc fraction between EtOAc and alkalized water of 80% EtOH extract after remove of hydrophobic components. The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of ginsenoside F₁ on elastase activity and tyrosinase activity was 1.07 mM and 1.81 mM, respectively. Especially, inhibitory effect of ginsenoside F₁ on tyrosinase activity was higher than that of arbutin (IC₅₀; 2.20 mM). These results indicate that ginsenoside F₁ have a potential for industrial cosmetic materials.

Key words – *Panax ginseng*, Leaves, Ginsenoside F₁, Elastase, Tyrosinase

고려인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 오가과(Araliaceae) 인삼속(*Panax*) 식물에 속하는 다년생 반음지성 속근초로서 뿌리를 식용 또는 약용으로 이용하고 있다. 인삼의 생리활성물질로 알려진 인삼사포닌은 30여 종이 알려져 있으며 주요 사포닌은 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁ 등이 보고되어 있다.¹⁾ 인삼의 주요 생리활성으로는 항당뇨, 항암, 항산화, 동맥경화 및 고혈압 예방, 간보호 및 숙취제거효과, 항 피로 및 항스트레스, 항염 활성 등이 보고되었다.²⁻¹⁶⁾ 인삼은 뿌리를 식용 또는 약용으로 이용하고 있으나 대개 4-6년 동안 재배한 후 수확하기 때문에 인삼 또는 인삼가공품의 가격은 상대적으로 다른 식품 또는 약재에 비해 고가이다. 대한민국 식품공전의 인삼홍삼제품의 원료 등의 구비조건에도 수삼은 3년근 이상으로서 춘미삼, 삼피, 인삼박은 사용할 수 없다고 명시하고 있다.¹⁷⁻¹⁹⁾ 따라서 인삼에서 분리된 ginsenoside 등의 생리활성 물질은 원료삼 자체가 고가여서 분리된 단일 성분은 수십 mg 당 수

백만원까지 이르고, 다량 확보하기도 쉽지 않다. 뿐만 아니라 시료가 많이 요구되는 동물실험을 통한 인삼의 효능 및 흡수 대사 관련 실험이 어려워 성분중심의 인삼 효능을 밝히는 데에도 한계가 있다. 인삼의 조사포닌의 함량은 잎에 24.8%, 줄기에 4.6%, 뿌리에 5.3%가 함유되어 뿌리나 줄기보다 잎에 훨씬 많은 것으로 알려져 있다.²⁰⁾ 인삼 잎에는 계절적 변동, 지리적 차이, 재배 기간의 길이에 따라 많은 차이가 있으나 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁ 등이 전체 진세노사이드의 30-40%를 함유하고 있고, 특히 Re, Rd, Rb₂ 및 F₁의 함유량이 상대적으로 뿌리에 비하여 높은 것으로 알려져 있다.^{21,22)} 따라서 수확후 폐기되는 인삼 잎이나 줄기에 함유된 생리활성 성분을 선별적으로 분리할 수 있는 기술개발이 절실히 필요한 상황이다. 특히, ginsenoside F₁ (F₁)은 자외선 보호효과와 미백활성이 있어^{23,24)} 화장품 소재로 활용가능성이 높으나 인삼 뿌리에 극미량 함유되어 있어 이를 단일 성분으로 분리하는 것은 쉽지 않을 뿐만 아니라 분리된 성분 또한 고가이므로 경제적으로 불합리하여 활용성이 매우 낮다. 따라서 본 연구는 인삼 뿌리에 극미량으로 함유된 ginsenoside F₁을 인삼 잎으로부터 간편하고 경

*교신저자(E-mail): pmk67@hanmail.net
(Tel): +82-41-750-1641

제적으로 정제하는 기술을 확립하고, 주름 개선 및 미백 효능을 평가함으로써 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 탐색하고자 시행하였다.

재료 및 방법

재료 - 인삼 잎 및 줄기는 금산인삼농협의 협조로 충북 청주시에서 인삼 수확후의 지상부를 채취하여 음건 하에서 건조하여 사용하였다. 인삼뿌리는 금산인삼농협에서 4년근을 구입하여 40°C에서 1주일간 건조하여 백삼으로 만들어 사용하였다. 추출 및 물질 분리에 사용한 유기용매는 EP급을 사용하였으며 HPLC 용매는 Merck사의 HPLC grade를 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiessel gel 60 (Merck, Germany)을 사용하였다. N-Succinyl-(Ala)3-p-nitroanilide, elastase 효소액, ursolic acid, tyrosinase, L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine), arbutin은 Sigma Chemical Co. (CA, U.S.A.)에서 구입했으며, mushroom tyrosinase는 Fluka Analytical (St. Louis, U.S.A.)에서 구입하였다. 표준품으로 사용한 ginsenoside F₁ (purity: 98.83%)은 엠보연구소(대전, 한국)로부터 구입하여 사용하였다.

Ginsenoside 함량 분석 - 진세노사이드의 정성분석은 silica gel TLC plate (Merck)를 사용하였다. 전개용매는 chloroform/methanol/water (65:35:10, lower phase)이었으며, 전개시킨 후 10% 황산(H₂SO₄)을 분무하여 110°C에서 5분간 발색하였다.

진세노사이드 정량 분석은 HPLC-PDA (Waters 1525, detector 2998, USA)를 사용하였으며, 컬럼은 Xbridge™ C₁₈ (250×4.6 mm 5 μm, Waters)을 사용하였다. 이동상으로 사용한 A용매는 물(H₂O), B용매는 아세토니트릴(acetonitrile)을 사용하였으며 분석조건은 0~42분(18%B), 42~46분(24%B), 46~79분(40%B), 79분~115분(65%B), 115분~135분(85%B), 135분~150분(85%B), 150~151분(18%B)으로 조절하였다. 유속은 1.0 ml/min, 컬럼온도는 40°C, 검출기는 PDA 203 nm 조건으로 분리하였다.

Ginsenoside F₁ 분리 - 분쇄한 인삼 잎 2.1 kg을 80% 에탄올(EtOH) 10 L를 가하여 환류냉각기를 부착시켜 수욕상에서 80°C로 8시간 3번 반복하여 추출한 후 감압 농축하여 에탄올 추출물 [EtOH ext. (1)] 688 g을 얻었다. EtOH ext. (1) 688 g 중 30 g을 클로로포름(CHCl₃)과 물로 분획하여 클로로포름 등의 지용성 물질을 제거하고, 물층은 동량의 에틸아세테이트(EtOAc)로 3회 반복하여 분획하였다. 회수된 EtOAc 층을 물로 씻어준 후 감압 농축하여 crude ginsenoside F₁ 분획 2 [EtOAc fr. (2)] 2.1 g을 얻었다. EtOH ext. (1) 688 g 중 60 g을 다시 CHCl₃와 물로 분획하여 지용성 물질을 제거한 후, 물층에 5% NaOH가 되도록 한 후, 에틸아세테이트로 3회 반복하여 분획하였다. EtOAc층은 수차례 물

로 세척한 후 감압농축하여 crude ginsenoside F₁ 분획 3 [EtOAc fr. (3)] 4.5 g을 얻었고, CHCl₃:MeOH:water=13:7:2의 이동상 조건으로 silica gel chromatography를 실시하여 ginsenoside F₁ (4) 473 mg을 분리하였고, HPLC 및 MS data를 표준품과 비교하여 구조를 확인하였다.

Elastase 억제 활성 측정 - Ginsenoside F₁의 elastase 저해 활성 측정은 James방법²⁵⁾을 변형하여 측정하였다. 96-well plate에 100 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0)을 100 μl 넣은 후 시료를 15 μl 넣었다. 2.9 mM의 N-Succinyl-(Ala)3-p-nitroanilide을 20 μl 씩 분주 한 다음, 0.2 unit으로 조제한 elastase 효소액 15 μl을 넣고 혼합 후 25°C에서 20분 동안 반응시켰다. 얼음에서 5분간 방치하여 반응을 정지시킨 뒤 410 nm 파장의 microplate reader를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군은 ursolic acid를 사용하였으며, 음성대조군으로 시료 100 mM Tris-HCl buffer를 대신 분주하여 측정하였다. Elastase 억제율은 (%) = [1-(효소액 및 시료용액 첨가 시 흡광도-효소액 대신 100 mM Tris-HCl buffer(pH 8.0) 첨가 시의 흡광도)/시료대신 100 mM Tris-HCl buffer(pH 8.0) 첨가 시의 흡광도] × 100으로 계산하였다.

Tyrosinase 억제 활성 측정 - Tyrosinase 저해 활성 측정은 Yagi 등²⁶⁾의 방법에 따라 측정하였다. 96-well plate에 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.5) 110 μl 분주한 후 시료 10 μl을 넣었다. 그 후 mushroom tyrosinase를 10 μl 분주한 다음 7.5 mM L-tyrosine을 20 μl 넣고 섞은 후 37°C에서 20분간 반응시켰다. 얼음위에서 5분간 방치하여 반응을 정지시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하여 tyrosinase 활성 억제율을 구하였다. 시료대신 양성대조군으로 arbutin을, 음성 대조군은 0.1 M sodium phosphate buffer를 동량 분주 하였다. Tyrosinase 억제활성은 (%) = [1-(효소액 및 시료용액 첨가 시 흡광도-효소액 대신 0.1 M sodium phosphate buffer 첨가 시의 흡광도)/시료대신 0.1 M sodium phosphate buffer 첨가 시의 흡광도] × 100으로 계산하였다.

L-DOPA 산화 억제 활성 측정 - DOPA 산화 저해활성 측정은 Kong 등²⁷⁾의 방법에 따라 측정하였다. 96-well plate에 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.0) 140 μl를 분주한 후 시료 20 μl를 넣는다. 그 후 1,500 U/ml의 mushroom tyrosinase 20 μl를 넣고 혼합한 후, 37°C에서 6분간 반응을 시켰다. 0.06 mM L-DOPA 20 μl를 넣은 후 5분간 37°C에서 반응을 시키고, 얼음위에서 방치하여 반응을 정지시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료대신 양성대조군으로 arbutin을, 음성 대조군은 0.1 M sodium phosphate buffer를 동량 분주 하였다. L-DOPA 산화억제활성은 (%) = [1-(효소액 및 시료용액 첨가 시 흡광도-효소액 대신 0.1 M sodium phosphate buffer 첨가 시의 흡광도)/시료대신 0.1 M sodium phosphate buffer 첨가 시의 흡광도] × 100으로 계산하였다.

통계학적 분석 – 실험결과는 시험된 시료가 효소활성을 50% 억제하는 농도(IC₅₀)로 나타냈으며 분석은 SigmaPlot equation library의 Regression Wizard를 활용하여 값을 구하였다.

결과 및 고찰

인삼의 잎, 줄기 및 뿌리에 함유된 Ginsenoside 함량 분석 – Ginsenoside Rg₁, Re, Rf, F₁의 PT계열 사포닌 4종과 Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd의 PD계열 사포닌 5종을 포함하여 총 9종의 ginsenoside의 함량을 분석한 결과, 뿌리는 9.1 mg/g, 잎은 151.3 mg/g, 줄기는 14.0 mg/g으로 잎의 ginsenoside 함량이 뿌리에 비해 16배 이상 월등히 높은 것을 확인할 수 있었다. PT계열 사포닌과 PD계열 사포닌의 비(PT계 사포닌/PD계 사포닌)는 뿌리가 0.98로 PD계 사포닌이 PT계 사포

닌보다 다소 높았으나, 잎은 1.56으로 PT계열 사포닌이 PD계열보다 높았고, 줄기는 11.71로 PT계열 사포닌의 비가 월등히 높게 나타났다(Table I). Ginsenoside Rg₁과 Rb₁의 비(Rg₁/Rb₁)는 뿌리가 1.05, 잎이 1.19, 줄기가 9.00으로 줄기, 잎, 뿌리의 순으로 Rb₁보다 Rg₁의 함량비가 높게 나타났다. 뿌리의 총사포닌 함량 및 Rg₁과 Rb₁의 비는 연구자에 따라 다소 다르고, 모양 및 크기 등의 개체에 따라 상당한 차이가 있음을 확인¹⁸⁾할 수 있으나 일반적으로 고려인삼의 Rg₁과 Rb₁의 함량비는 대략적으로 비슷하거나 Rb₁이 약간 높은 것으로 보고되고 있다.^{18,19)} Table I에 나타난 바와 같이 인삼잎은 사포닌의 절대 함량이 뿌리에 비해 높을 뿐 아니라 ginsenoside Re, F₁, Rd는 상대적 함량비율이 높았다. 특히 뿌리의 미량 성분인 ginsenoside F₁은 9.1 mg/g으로 뿌리에 비하여 91배나 높게 나타났고 잎에서도 4번째로 많은 사포닌으로 분석되어 잎을 활용하여 새로운 부가가치를 창출할 수 있는 소재로서의 가능성을 보였다.

Table I. Ginsenoside contents of leaves, stems and roots of ginseng

Ginsenoside (mg/g)	Root	Leaf	Stem
Rg ₁	2.2	22.3	3.6
Re	1.4	59.9	8.6
Rf	0.8	0.8	0.2
F ₁	0.1	9.1	0.5
Rb ₁	2.1	18.8	0.4
Rc	1.4	5.4	0.0
Rb ₂	0.7	7.1	0.1
Rb ₃	0.1	1.1	ND
Rd	0.3	26.9	0.6
Total	9.1	151.3	14.0
PT type/PD type	0.98	1.56	11.71
Rg ₁ /Rb ₁	1.05	1.19	9.0

Ginsenoside F₁ 분획 제조 및 분리 – 인삼의 미량성분인 ginsenoside F₁은 자외선 보호효과와 미백활성 등이 보고되어²⁰⁾ 화장품소재로 활용가능성이 있으나 뿌리에 극미량으로 함유되어 쉽게 얻을 수 없고, 고가이기 때문에 생리활성 등의 활용성에 대한 연구가 인삼의 다른 성분에 비하여 많지 않다. Ginsenoside F₁은 인삼의 주요성분인 ginsenoside Re나 Rg₁으로부터 lactase나 naringinase와 같은 효소에 의해 가수분해 되어 생성될 수도 있기 때문에 효소가수 분해하여 F₁을 생산한 후 chromatography를 실시하여 분리하는 방법들이 시도되고 있다.^{28,29)} 그러나 저자들은 인삼잎에 F₁이 약 1%가량 함유되어 있는 것을 확인하고, 효소 등의 처리를 거치지 않고, 인삼잎으로부터 F₁을 손쉽게 분리하고자 하였다. Ginsenosides는 소수성인 terpenoids와 친수성인 당이 결합된 형태로 전통적으로 물과 부탄올로 분획하여 부탄올로 이행하는 분획을 취하여 조사포닌 분획을 얻었다. 이들 조사포닌 중 주요성분은 dammarnan 골격의 terpenoid

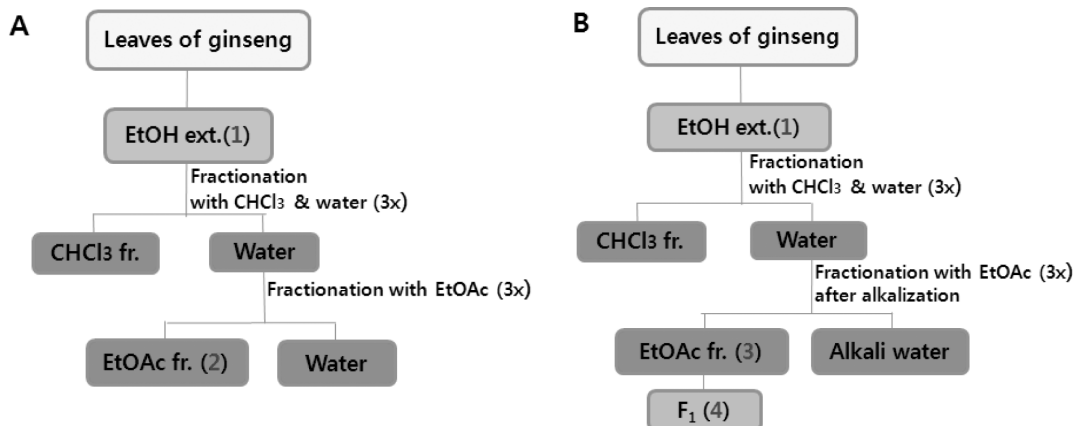
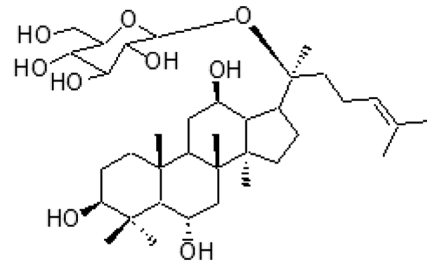


Fig. 1. Scheme for isolation process of ginsenoside F₁ from *P. ginseng* leaves. A; General fractionation with EtOAc and water, B; Fractionation with EtOAc and water after alkalization.

에 PD계열은 3~4개의 당이, PT계열은 2~3개의 당이 붙어 있어 상대적으로 당이 1개 붙어있는 F₁보다 극성이 높은 편이다. 이러한 점에 착안하여 인삼잎 에탄올 추출물을 CHCl₃와 물로 분획하여 클로로필 등의 소수성 물질을 제거한 다음, 물층을 부탄올보다 극성이 낮은 에틸아세테이트와 분획 [EtOAc fr. (2)]하여 F₁을 회수할 수 있었으나(Fig. 1A), 극성이 높은 진세노사이드가 일부 F₁ 분획인 EtOAc층으로 이행되었다(Fig. 2). 따라서 F₁과 극성이 더 높은 다른 주요 진세노사이드를 선명하게 나눌 수 있도록, 물층에 5% NaOH를 첨가하여 알카리화한 후 EtOAc로 분획 [EtOAc fr. (3), Fig. 1B]하여 얻어진 EtOAc fr. (3)는 Fig. 2의 TLC에서 보는 바와 같이 선명하게 F₁이 다른 극성이 높은 진세노사이드와 나뉘는 것을 확인할 수 있었다. 인삼 잎추출물로부터 소수성 물질을 제거한 후 물과 에틸아세테이트로 분획한 EtOAc fr. (2)는 HPLC 정량분석에 의한 F₁의 함량은 12.6%, 수율은 인삼잎 대비 2.2%였으나, 알카리화 수층으로 분획한 EtOAc fr. (3)의 F₁ 함량은 21.3%로 증가하여 약 9%의 함량을 증가시킬 수 있었고, 수율도 2.4%로 약간 크게 나타났다(Table II). 인삼뿌리 추출물을 알카리수에 녹이고 부탄올 추출하여 PT계열 사포닌을 얻고, 다시 물층을 중화하여 부탄올 분획하면 PD계열 사포닌을 얻을 수 있다는 것은 이미 Sung 등³⁰⁾에 의해 보고되었으나, 인삼잎으로부터 F₁ 분획을 알카리수 처리하여 얻는 방법은 본 연구자에 의해 처음으로 시도되었다. EtOAc fr. (3) 4.5 g을 silica gel chromatography (CHCl₃:MeOH:water = 13.7:2)를 실시하여



Ginsenoside F₁

Fig. 3. Structures of ginsenoside F₁.

473 mg의 F₁ (purity 97.5%)을 분리하였고, ESI-MS spectrum에서 [M-H]⁺의 637.3의 peak를 확인하고 HPLC chromatography 분석을 표준품과 비교하여 ginsenoside F₁ (Fig. 3)임을 확인하였다. 인삼 잎 에탄올 추출물의 알카리수와 EtOAc 분획에 의한 F₁ 분획정제 방법은 인삼의 뿌리로부터 수득되는 F₁의 수득량에 비해 월등히 높은 수득율을 보일 뿐만 아니라, 기존에 수행되고 있는 물과 부탄올 분획으로 얻는 방법보다 손쉽고 경제적이며 고농도의 F₁ 분획을 제조하는데 효과적이었다. 특히 효소처리등의 어떠한 부가적인 처리 없이 한번의 분획과 한번의 silica gel chromatography를 실시하여 고순도의 F₁을 다량 확보할 수 있어 F₁의 생리활성 연구 및 상업적인 활용을 기대할 수 있게 되었다.

Ginsenoside F₁의 Elastase 억제 활성 - Elastase는 피부구조와 탄력을 유지하는 역할을 하는 주요 단백질 중의 하나인 엘라스틴을 분해하거나 콜라겐을 비특이적으로 가수분해하는 효소이다. 피부주름은 연령이 증가함에 따라 콜라겐 생성 감소 또는 분해속도 증가, 자외선 등에 의해 elastase 활성이 증가되어 생성되는 것으로 알려져 있으므로,³¹⁾ elastase 저해제는 주름개선효과를 기대할 수 있다. Ginsenoside F₁의 50% elastase 억제효과 농도는 1.07 mM이었으며, 저해활성이 높은 것으로 알려져 있는 ursolic acid 0.04 mM보다는 저해효과가 높지 않았으나 Kim 등³²⁾에 의한 ascorbic acid (5.8 mM에서 72.2%억제) 보다 저해활성이 높게 나타났다.

Ginsenoside F₁의 Tyrosinase 억제 활성 - 흑갈색의 색소 멜라닌은 피부의 melanocyte 세포에서 펩타이드 tyrosinase에 의해 생성되어진다. Tyrosinase는 인체내의 멜라닌 생합성 경로에서 가장 중요한 초기 속도결정단계인 L-tyrosine에서 L-DOPA를 거쳐 L-dopaquinone으로의 전환에 관여하는 효소로서, 피부가 자외선에 노출되었을 때 활성화되어 피부노화가 촉진되며 피부에 암갈색의 색소물질을 침착하게 하기 때문에 미백 성분의 효과를 평가하는데 널리 이용되고 있다.³¹⁾ Ginsenoside F₁의 tyrosinase 억제활성은 L-tyrosine을 기질로 하여 L-DOPA가 생성되는 단계에서는 50% tyrosinase 억제 농도가 10 mM 이상으로 크지 않았으나, L-DOPA에서 L-dopaquinone으로 전환하는 L-DOPA 산

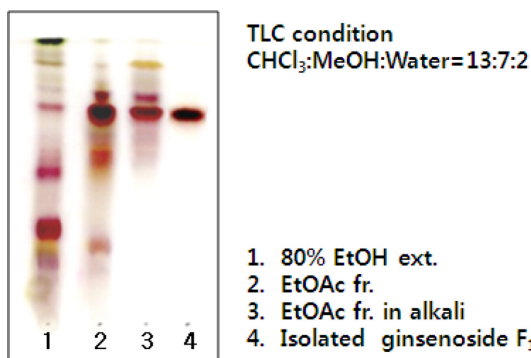


Fig. 2. TLC analysis of Ginsenoside F₁ and its fraction from *P. ginseng* leaves.

Table II. Yield and content of ginsenoside F₁ in extract and fractions from leaves of ginseng

	EtOH ext. (1)	EtOAc fr. (2)	EtOAc fr. (3)	F ₁ (4)
Yield (%)*	31.5	2.2	2.4	0.5
F ₁ content (%)	2.8	12.6	21.3	97.5

*Yield from dried leaves

Table III. Elastase inhibitory effect of ginsenoside F₁

	IC ₅₀ (mM)
Ginsenoside F ₁	1.07
Ursolic acid	0.04

Table IV. Tyrosinase inhibitory effect of ginsenoside F₁

	IC ₅₀ (mM)	
	Tyrosine	L-DOPA*
Ginsenoside F ₁	100<	1.82
Arbutin	0.85	2.20

*L-DOPA; L-3,4-dihydroxy-phenylalanine

화반응에 대한 50% 활성 저해농도는 1.82 mM로 미백효과가 있는 것으로 알려진 물질 가운데 가장 널리 활용되고 있는 arbutin 2.20 mM보다 높게 나타났다. 이러한 결과는 ginsenoside F₁이 B16 melanoma cell에서 melanin 생성을 강력하게 억제하고,²¹⁾ ultraviolet-B 유도 세포손상 및 apoptosis로부터 HaCaT cell의 보호효과가 강력하다는 보고²⁰⁾ 등으로 미루어 볼 때 우수한 미백효능을 가짐을 확인할 수 있었다.

결 론

Ginsenoside F₁은 인삼뿌리에 미량 함유된 성분으로 분리가 쉽지 않고 고가이므로 산업소재로서의 활용도가 많이 떨어질 뿐 아니라 생리활성 평가 등의 연구도 인삼의 주요 성분인 Rg₁, Re, Rb₁, Rb₂, Rc 및 Rd 등에 비해 많지 않은 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 인삼잎에 ginsenoside F₁의 함유량이 인삼 뿌리에 비해 90배 이상 높게 함유된 것을 확인하고 인삼잎으로부터 간편하고 경제적으로 ginsenoside F₁을 대량분리 할 수 있는 방법을 확립하고, elastase 억제효과에 따른 주름개선효과와 L-DOPA에서 L-dopaquinone으로 전환하는 L-DOPA 산화반응을 유도하는 tyrosinase 억제 활성을 평가함으로써 피부미백 효과를 확인하였다. 이상의 결과는 인삼잎으로부터 분리된 ginsenoside F₁이 산업화가 가능한 미백효능을 가지는 화장품 소재로서 활용가치를 기대할 수 있게 하였다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 제15대 어젠다 사업(PJ907033)의 연구비 및 지식경제부 지역특화기술융복합연구지원사업(A005200013)의 연구비 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Nah, S. Y. (1997) Ginseng: recent advances and trends, *Korean J. Ginseng Sci.* **21**: 1-12.
- Yuan, H. D., Kim, J. T., Kim, S. H. and Chung, S. H. (2012) Ginseng and Diabetes: The evidences from in vitro, animal and human studies, *J. Ginseng Sci.* **36**: 27-39.
- Choi, C. S., Kim, K. I., Hong, H. D., Choi, S. Y., Lee, Y. C., Kim, K. T., Rho, J., Kim, S. S. and Kim, Y. C. (2006) Phenolic acid composition and antioxidative activity of white ginseng. *J. Ginseng Res.* **1**: 2-30.
- Han, S. T., Whang, W. K., Kim, I. H., Yang, B. W., Cho, S. H. and Ko, S. K. (2005) Analysis of ginsenosides of black ginseng. *Yakhak hoeji* **49**: 490-494.
- Han, B. H., Park, M. H., Han, Y. N. and Shin, C. S. (1984) Studies on the antioxidant components of Korean Ginseng(IV) Antifatigue active components. *Yakhak hoeji* **28**: 231-235.
- Hu, S. J., Jin, S. H. and Choi, D. M. (2008) Analysis of Benzo(a)pyrene in red ginseng beverage. *J. Food Hygiene and Safety* **23**: 26-30.
- Joo, C. N., Koo, J. D., Kim, D. S. and Lee, S. J. (1977) Biochemical studies of ginseng saponins. The effect of ginseng saponins on alcohol dehydrogenase. *Hanguk Saenghwa Hakhoe Chi* **10**: 177-184.
- Jie, Y. H., Cammisuli, S. and Baggiolini, M. (1984) Immunomodulatory effects of *Panax ginseng* C.A. Meyer in the mouse. *Agents Actions* **15**: 386-391.
- Jin, H. K., Kim, S. H. and Lee, J. K. (1982) Studies of the physiological activity of Korean ginseng. *Kor. J. Applied Microbiology* **10**: 101-108.
- Keum, Y. S., Park, K. K., Lee, J. M., Chun, K. S., Park, J. H., Lee, S. K., Kwon, H. and Surh, Y. J. (2000) Antioxidant and anti-tumor promoting activities of methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett.* **150**: 41-48.
- Kim, S. N. and Kang, S. J. (2009) Effects of black ginseng(9 times-steaming ginseng) on hypoglycemic action and changes in the composition of ginsenosides on the steaming process. *Kor. J. Food Sci. and Technol.* **41**: 77-81
- Kwak, Y. S., Park, J. D. and Yang, J. W. (2003) Present and prospect of red ginseng efficiency research. *Food Industry and Nutrition* **8**: 30-37.
- Lee, J. H., Shen, G. N., Kim, E. K., Shin, H. J., Myung, C. S., Oh, H. J., Kim, D. H., Rohh, S. S., Cho, W., Seo, Y. B., Park, Y. J., Kang, C. W. and Song, G. Y. (2006) Preparation of black ginseng and antitumor activity. *Kor. J. Oriental Physiology & Pathology* **20**: 951-986.
- Lee, D. C., Lee, M. O., Kim, C. Y. and Clifford, D. H. (1981) Effect of ether, ethanol and aqueous extracts of ginseng on cardiovascular function in dogs. *Can. J. Comp. Med.* **45**: 182-187.
- Park, C. K., Jeon, B. S. and Yang, J. W. (2003) The chemical

- components of Korean Ginseng. *Food Industry and Nutrition* **8**: 10-23.
16. Park, C. W. (1984) The studies of pharmacology of ginseng. *Biochem. News* **4**: 37-56.
 17. Jeon, B. S., Kwak, Y. S. and Baek, S. S. (2008) Research prospect of Korean ginseng processing. *Korean J. Ginseng Sci.* **2**: 7-12.
 18. Hwang, J. H., Ha, J. H., Hawer, W. D., Nahmgung, B. and Lee, B. Y. (2005) Ginsenoside contents of Korean white ginseng and Taegeuk ginseng with various size and cultivation years. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**: 508-512.
 19. Lee, C. R., Whang, W.K., Shin, C. G., Lee, H. S., Han, S. T., Im, B. O. and Ko, S. K. (2004) Comparison of ginsenoside composition and contents in fresh ginseng roots cultivated in Korea, Japan, and China at various ages. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**: 847-850.
 20. Cho, K. L. Woo, H. J., Lee, I. S. Lee, J. W. Cho, Y. C. Lee, I. N. and Chae, H. J. (2010) Optimization of enzymatic pretreatment for the production of fermented Ginseng using leaves, stems and roots of ginseng. *J. Ginseng Res.* **34**: 68-75.
 21. Jackson, C. J. C., Dini, J. P., Lavandier, C., Faulkner, H., Rupasinghe, H. P. V. and Proctor, J. T. A. (2003) Ginsenoside content of North american ginseng (*Panax quinquefolius* L. Araliaceae) in relation to plant development and growing locations. *J. Ginseng Res.* **27**: 135-140.
 22. Xie, J. T., Wu, J. A., Lin, E. Wang, C. Z. and Yuan, C. S. (2004) Constituents and effects of ginseng leaf, *Orient Pharm. Exp. Med.* **4**: 1-8.
 23. Lee, E. H., Cho, S. Y., Kim, S.J., Shin, E. S., Chang, H. K., Kim, D. H., Yeom, M. H., Woe, K. S., Lee, J. S., Shim, Y. C. and Lee, T. R. (2003) Ginsenoside F₁ protects human HaCaT keratinocytes from ultraviolet-B-induced apoptosis by maintaining constant levels of Bcl-2. *J. Invest. Dermatol.* **121**: 607-613.
 24. Yoo, D. S., Rho, H. S., Lee, M. H., Kim, D. H., Lee, S. J., Hong, S. Y., Lee, J. H. and Cho, J. Y., (2011) Ginsenoside F1 modulates cellular responses of skin melanoma cells. *J. Ginseng Res.* **35**: 86-91.
 25. James, A. E. K., Timothy, D. W. and Gorden, L. (1996) Inhibition of human leucocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic tyrosinase inhibitors. *Biochem.* **35**: 9090-9096.
 26. Yagi, A., Kanbara, T. and Morinobu, N. (1987) Inhibition of mushroom tyrosinase by also extract. *Planta Med.* **53**: 517-519.
 27. Kong, K. H., Park, S. Y., Hong, M. P. and Cho, S. H. (2000) Expression and characterization of human tyrosinase from a bacterial expression system. *Comp. Biochem. Physiol.* **125**: 563-569.
 28. Ko, S. R., Choi, K. J., Suzuki, K. and Suzuki, Y. (2003) Enzymatic preparation of ginsenoside Rg₂, Rh₁, F₁. *Chem. Pharm. Bull.* **51**: 404-408.
 29. Ko, S. R., Choi, K. J., Suzuki, K. and Suzuki, Y. (2003) Enzymatic preparation of ginsenoside Rg₂, Rh₁, F₁ from protopanaxatriol-type Ginseng saponin mixture. *Planta Med.* **69**: 285-286.
 30. Sung, J. H., Chae, H. J. and Kim, E. Y. (2000) Development of separation method of ginseng saponins using ion exchange resin. *Chromatography* **21**: 203-208.
 31. Tsuji, N., Moriwaki, S., Suzuki, Y., Takema, Y. and Imokawa, G. (2001) The role of elastases secreted by fibroblast in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. *Photochem. Photobiol.* **74**: 283-290.
 32. Kim, H. Y., Cho, E. K., Kang, S. H., Bae, J. M. and Choi, Y. J. (2012) α -Glucosidase, tyrosinase, and elastinase effects of enzymatic extracts from *Ecklonia cava* and its alcohol metabolizing activity. *J. Life Sci.* **22**: 751-759.

(2013. 1. 11 접수; 2013. 2. 6 심사; 2013. 2. 19 게재확정)