

한방 발효주 주박 추출물의 미백 및 피부 주름 개선 효과

이수민^{1*} · 이상진^{1,2*} · 권이영¹ · 백상훈¹ · 김종식³ · 손호용⁴ · 신우창¹

¹(주)국순당부설연구소, ²숙명여자대학교 세포운명조절센터
³안동대학교 생명과학과, ⁴안동대학교 식품영양학과

Skin Whitening and Anti-Wrinkle Effects of Extract from Jubak of Oriental Herbal Liquor

Su-min Lee^{1*}, Sang-Jin Lee^{1,2*}, Yi-Young Kwon¹, Sang-Hoon Baek¹,
Jong-Sik Kim³, Ho-Yong Sohn⁴, and Woo-Chang Shin¹

¹Research Laboratories, Kooksoondang Brewery Co., Ltd.

²Research Center for Cell Fate Control, College of Pharmacy, Sookmyung Women's University

³Department of Biological Sciences and ⁴Department of Food and Nutrition, Andong National University

ABSTRACT Oriental herbal liquor (Yakju) is a type of Korean traditional alcoholic beverage that uses Nuruk and oriental herbs for fermentation. The purpose of this study was to develop cosmetic ingredients using Jubak, which is a by-product of alcoholic fermentation of oriental herbal liquor. To investigate antioxidant, whitening, and anti-aging effects of Jubak, we prepared extract of Jubak and its solvent fractions. Ethyl acetate fraction (KSD E4-3) showed the most prominent free radical [1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)] scavenging activity (SC₅₀: 0.75 mg/mL). KSD E4-3 significantly inhibited *in vitro* mushroom tyrosinase activity (IC₅₀: 0.82 mg/mL) and reduced the melanin contents in mouse melanoma melanocyte, B16F10 cells. KSD E4-3 down-regulated protein expression of tyrosinase related proteins (TRP)-1, -2, which play key roles in melanogenesis. For anti-aging effects, inhibition of matrix metalloproteinase (MMPs) expression was evaluated using human keratinocyte, HaCaT cells. Treatment of HaCaT cells with KSD E4-3 reduced expression of MMP-1, -2, -9 and inhibited proteolytic activities of MMP-2, -9. These results suggest that KSD E4-3 induces down-regulation of cellular melanogenesis and protects against photoaging induced by UVB-induced damage. Thus KSD E4-3 could potentially be a valuable cosmetic ingredient.

Key words: antioxidant, anti-melanogenesis, anti-wrinkle, oriental herbal liquor, Jubak

서 론

피부노화는 그 요인에 따라 내인적 노화(intrinsic aging)와 외인적 노화(extrinsic aging)로 구분할 수 있다. 외인적 노화는 외부 스트레스에 의해 노화 현상이 나타나는 것으로 광노화가 주된 원인이다. 자외선을 받게 되면 교원질(collagen) 및 탄력섬유(elastin fiber) 등의 기질 단백질이 손상되어 피부 내 교원질의 양이 부족해지고 탄력섬유가 변성되어 주름을 유발하며 기미, 주근깨 및 검버섯이 증가하는 현상을 보인다(1,2). 자외선에 피부가 노출되면 색소침착이 증가되는데, 이는 멜라닌 세포가 자외선 흡수에 의한 손상을 방어하기 위한 목적으로 멜라닌을 생성하기 때문이다(3). 피부 미백과 주름 개선 효능이 있는 다양한 소재 연구가 활발하게

진행되고 있으며 특히 웰빙 트렌드 확산으로 안전하고 우수한 효능을 함유한 천연 소재 개발에 초점을 맞추고 있다(4, 5).

주박은 쌀, 물, 누룩, 효모를 이용한 전통주 발효 과정을 거쳐 약주나 탁주를 거르고 남은 양조부산물로 원료 쌀의 약 20% 정도로 발생하며, 전분과 단백질 이외에도 섬유소, 무기질, 비타민, 알코올과 유기산, 효소, 효모 등의 영양성분과 유용 생리활성 성분을 다량 함유하고 있는 것으로 보고되어 있다(6,7). 실제로 쌀을 주원료로 사용하는 탁주 주박의 경우 식량이 부족했던 시절에 대체 식량으로 이용된 바 있으며, 최근에는 화장품 소재로도 각광받고 있다. 그러나 현재 국내에서의 주박 이용은 주박 내 알코올을 이용한 식초 제조, 향미 성분을 이용한 야채 절임류 제조 및 일부 친환경 비료와 동물 사료에 한정되어 있고, 대부분은 폐기 처리되고 있는 실정이다.

수백 년 동안 동양에서 사용되었던 한약재의 발효 추출물은 대부분 일정 수준 이상 효능과 안전성이 인정된 소재이다(8,9). 그러한 이유로 천연물, 특히 한방 발효 추출물을 이용

Received 9 June 2014; Accepted 15 October 2014

*These authors contributed equally to this work.

Corresponding author: Woo-Chang Shin, Research Laboratories, Kooksoondang Brewery Co., Ltd., Seongnam, Gyeonggi 462-120, Korea

E-mail: wcshin@ksdb.co.kr, Phone: +82-31-739-5381

한 화장품은 꾸준히 인기를 끌고 있다. 우리나라 대표 발효주인 막걸리는 피부 생리활성 효능이 확인되어 산업적으로 이용되고 있으나(10,11), 한약재를 함께 적용한 한방 발효주에 대한 체계적인 연구는 현재까지는 미비한 실정이다. 미백, 항산화, 항노화 효과가 있는 한약재를 이용하여 발효주를 만들면 기존의 발효주보다 피부의 기능 활성화에 도움을 주는 생리활성물질이 풍부할 것으로 예상되며, 본 연구에서는 12가지 한약재가 첨가된 전통 한방 발효주 제조과정에서 생기는 부산물인 주박을 이용하여 추출물 및 분획물을 제조하고, 이를 화장품 소재로 활용하기 위하여 피부 미백 및 주름에 미치는 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

시약

Fetal bovine serum(FBS), Dulbecco's modified Eagle medium(DMEM), penicillin, streptomycin, trypsin-EDTA는 Gibco-BRL(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. Dimethyl sulfoxide(DMSO), mushroom tyrosinase, L-tyrosine, α -melanocyte stimulating hormone(α -MSH), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Matrix metalloproteinase(MMP)-1, -2, -9, anti-mouse horseradish peroxidase(HRP) conjugated secondary antibody와 anti-rabbit HRP conjugated secondary antibody는 Cell Signaling Technology(Beverly, MA, USA)에서, tyrosine related protein(TRP)-1, -2는 Abcam(Cambridge, UK)에서 구매하였다. Polyvinylidene fluoride(PVDF) membrane은 Millipore(Billerica, MA, USA)에서, enhanced chemiluminescence detection kit는 Amersham Bioscience(Pittsburg, PA, USA)에서 구입하였다.

시료 제조

본 연구에는 자사(국순당)에서 생산하여 시중에 유통 중인 전통 한방 발효주 생산 과정에서 발생하는 주박을 이용하여 실험하였다. 이 전통 한방 발효주는 분쇄한 쌀에 누룩과 효모, 12가지(구기자, 감초, 오미자, 하수오, 홍삼, 산수유, 맥문동, 산사육, 진피, 고수, 건강, 수국) 한약재를 첨가하여 발효 과정을 거친 한방 발효주이다. 전통 한방 발효주 주박에 95% 에탄올을 가하여 3일간 교반 후 1차 추출하여 KSD E4-1 샘플을 준비하고, 이를 n-헥산으로 분획하여 KSD E4-2 샘플을 준비하며, 다시 에틸아세테이트로 분획하여 KSD E4-3 샘플을 준비하였다. 각 샘플을 여과지(Filter paper No.2, Whatman, Piscataway, NJ, USA)로 거른 후 55°C에서 감압 건조하여 전통 한방 발효주 주박의 유기용매 분획물을 준비하였다. 시료는 DMSO에 적당한 농도로 녹여 활성 평가에 사용하였다.

세포 및 배양방법

Mouse melanoma melanocytes(B16F10 cells), human keratinocytes(HaCaT cells) 세포주는 10% FBS, 100 U/mL penicillin, 100 mg/mL streptomycin을 첨가한 DMEM 배지를 사용하였다. 모든 세포주는 37°C, 5% CO₂를 유지하며 배양하였다.

DPPH 라디칼 소거능

항산화 활성은 DPPH를 이용하여 시료의 라디칼 소거 효과를 측정하는 Blois법(12)을 활용하였다. 추출물 0.9 mL에 동일한 양의 0.1 mM DPPH 용액을 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 516 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ascorbic acid는 positive control로 사용하였고 추출물이 라디칼 50%를 소거하는 농도를 SC₅₀으로 표현하였다. 각 시료의 라디칼 소거능은 아래의 식에 의해 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}}\right) \times 100$$

In vitro tyrosinase 저해 활성 평가

Tyrosinase 저해 활성 측정은 No 등(13)의 방법을 변형하여 측정하였다. 반응구는 0.1 M phosphate buffer(pH 6.5)와 1 mM L-tyrosine을 녹인 기질액 40 mL, 시료 용액 10 mL의 혼합액에 mushroom tyrosinase 20 mL를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Kojic acid는 positive control로 사용하였으며 tyrosinase 저해 활성(%)은 아래 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Tyrosinase 저해 활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}}\right) \times 100$$

멜라닌 생성 억제능 평가

B16F10 cells을 1.5×10⁵ cells/mL로 6-well plate에 분주하고 10% FBS가 함유된 DMEM 배지에서 24시간 배양하였다. KSD E4-3을 α -MSH 100 ng/mL가 포함된 DMEM 배지에 첨가하여 48시간 배양하였다. 배지를 모두 제거하고 trypsin을 처리하여 세포를 회수한 후 회수한 세포에 1 N NaOH(10% DMSO 포함)를 첨가하여 60°C에서 30분 방치하여 멜라닌을 녹였다. 이 용액을 microplate reader(Molecular Devies, Silicon Valley, CA, USA)로 405 nm에서 흡광도를 측정하여 멜라닌 함량을 구하였다.

Western blot analysis

UVB 20 mJ/cm²를 조사하고 KSD E4-3을 처리하여 24시간을 배양하였다. 세포를 회수한 후 lysis buffer를 첨가하여 얻은 단백질을 Bradford법(14)을 이용하여 정량하였다. 단백질 20 μ g을 10% SDS-PAGE에 전기영동을 수행하고 gel의 단백질을 PVDF membrane으로 이동시킨 후 5% non-fat milk로 상온에서 1시간 동안 blocking 하고 pri-

mary antibody(MMP-1, -2, -9, TRP-1, -2)를 가하여 4°C에서 overnight 시켰다. 마지막으로 PVDF membrane을 0.1% TBST로 세척하고 secondary antibody conjugated-HRP를 희석하여 상온에서 1시간 동안 교반하고 enhanced chemiluminescence detection kit를 사용하여 단백질을 확인하였다.

Zymography

HaCaT를 1×10^6 cells/mL가 되도록 60 mm cell culture dish에 분주하여 24시간 배양 후 UVB 20 mJ/cm²를 조사하고 KSD E4-3을 처리하여 24시간을 배양하였다. 배지를 수거하여 3,000 rpm에서 30분 원심분리를 수행하고 Bradford법을 이용하여 단백질의 양을 정량하여 10% SDS-PAGE(1 mg/mL gelatin 함유)에서 전기영동 수행 후, 0.1% triton-X로 30분씩 2번 세척한 다음 developing buffer를 넣어 30°C에서 18시간 동안 반응시키고 Coomassie Blue 로 염색을 하여 관찰하였다.

통계학적 분석

모든 실험은 3회 반복실험을 실시하였으며 각 시료들의 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었고, 각 실험 결과의 통계적 유의성 검토는 시료가 포함되지 않은 대조구와 비교하여 Student's *t*-test에 의하여 판정하였으며 *P* 값이 0.05 미만일 때 유의성이 있다고 판단하였다.

결과 및 고찰

한방 발효주 주박 추출물의 항산화 효과

활성 산소종은 피부노화의 원인으로 인체 내 지질, 단백질 등과 반응하여 생체의 노화를 촉진시킨다. DPPH radical 소거법은 항산화 물질의 전자 공여능을 이용한 항산화 측정 방법으로 이 방법을 이용하여 전통 한방 발효주 주박 분획물의 항산화 효과를 살펴보았다. 3개의 한방 발효주 주박 분획물은 항산화력을 나타냈으며 그중 에틸아세테이트 분획물인 KSD E4-3은 5 mg/mL에서 95.5%, 1 mg/mL에서 67.3% (SC₅₀: 0.75 mg/mL)의 우수한 항산화 활성을 나타내었다. 이때 positive control로 사용한 ascorbic acid는 0.1 mg/mL에서 96.8%(SC₅₀: 0.05 mg/mL)의 항산화 활성을 나타내었다(Fig. 1A, 1B). 이것은 Cho 등(15)이 막걸리 침전물로부터의 열수 추출물이 10 mg/mL 농도에서 48%의 DPPH 라디칼 소거능을 보인다고 보고한 것보다 우수한 효과이다. 효모, 곰팡이, 유산균 등 유익한 미생물에 의한 발효공정은 천연물의 독성을 낮추거나 새로운 물질을 생성 또는 유효 물질을 전환하여 생리활성을 증가시켜 이를 통한 기능성 향상 연구가 시도되고 있다(16). 따라서 Ahn 등(17)의 연구 결과와 같이 발효 및 추출에 의해 기존 천연물이 가지고 있는 유효성분 및 생리활성물질의 수율이 극대화 또는 새로 생성되어 이러한 효과가 나타나는 것이라 생각되며, 이후

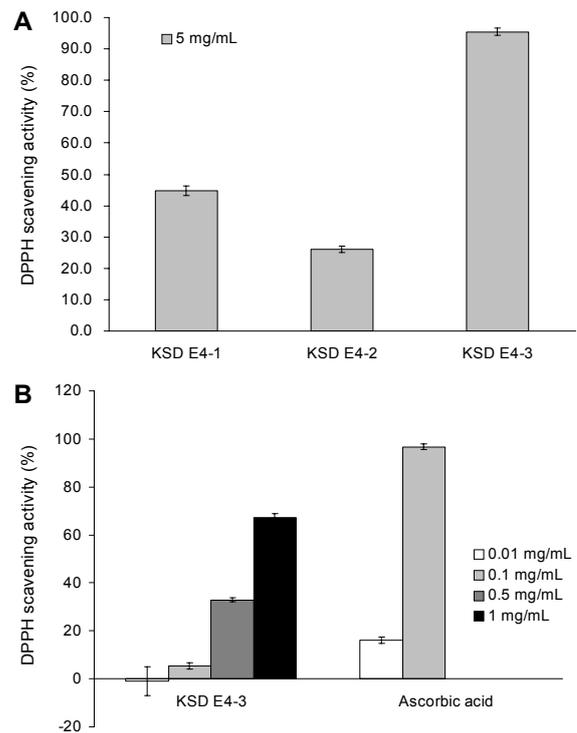


Fig. 1. Anti-oxidant activity of extract from Jubak of oriental herbal liquor in DPPH. (A) KSD E4-1: ethanol extract of Jubak of oriental herbal liquor, KSD E4-2: n-hexane fraction of KSD E4-1, KSD E4-3: ethylacetate fraction. (B) DPPH radical scavenging activity of KSD E4-3.

실험에서는 항산화 효과가 높은 KSD E4-3을 이용하여 실험하였다.

한방 발효주 주박 추출물의 피부 미백 효과

멜라닌 생합성에 관여하는 효소로 tyrosinase, TPR-1, TRP-2가 잘 알려져 있다. Tyrosinase는 피부 기저층에 있는 melanocyte의 melanosome에서 L-tyrosine과 3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA)을 기질로 하여 피부의 색소 성분인 melanin을 생합성하는 핵심 효소이다(18). 또한 TRP-1은 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid(DHICA)를 indole-5,6-quinone-2-carboxylic acid로 산화시키고, TRP-2는 dopachrome을 DHICA로 이성화시켜 멜라닌 형성에 관여한다(19). 기질인 L-tyrosine과 효소인 mushroom tyrosinase에 의해 산화되어 생성되는 멜라닌의 흡광도 측정을 통해 KSD E4-3의 tyrosinase 저해 활성을 알아본 결과, KSD E4-3은 농도 의존적으로 tyrosinase 저해 활성을 나타내었으며 1 mg/mL에서 65.3%의 저해력을 나타내었다(Fig. 2). 멜라닌 생성 세포인 멜라노사이트를 이용하여 KSD E4-3이 세포에서 멜라닌 형성을 저해하는지 살펴 보았다. B16F10 cells에 α -MSH와 KSD E4-3을 처리한 후 세포 내 멜라닌 양을 측정한 결과, KSD E4-3은 농도 의존적으로 melanin 합성을 저해하였으며 200 mg/mL에서 30.3%, 100 mg/mL에서 25.8%의 melanin 합성 저해력을

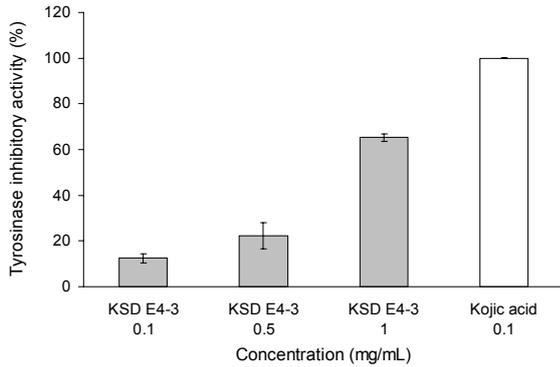


Fig. 2. Inhibitory effect of KSD E4-3 against tyrosinase activity.

나타내었다(Fig. 3A). 이러한 결과가 멜라닌 생성에 관련된 단백질 발현과도 연관성이 있는지를 확인하기 위해 TRP-1, TRP-2의 항체를 이용한 western blot을 실시하였다. KSD E4-3은 TRP-1과 TRP-2의 단백질 발현을 저해하였다(Fig. 3B). 선행 연구에서 미백 효과가 우수한 4가지 약제(감초, 구기자, 상백피 및 삼백초)를 첨가한 한방 이화주(한방막걸리)는 일반 이화막걸리보다 미백 효과가 더 우수함을 확인한 바 있다(20). 또한 실험에 사용한 한방 발효주의 약제에는 구기자, 감초 등 미백, 항산화 효과가 우수한 약제들이 포함되어 있다(21-25). 따라서 KSD E4-3의 tyrosinase 활성 저해와 TRP-1과 TRP-2의 발현 저해를 통한 melanin 생합성 저해 효과는 약제에서 유래된 다양한 유효성분이 발효에 의해 증강된 효과라 사료된다.

한방 발효주 주박 추출물의 주름 개선 효과

노화에 따른 진피의 조직학적 변화로는 진피의 감소를 들

수 있으며 진피의 주요 구성물질인 교원질의 결핍이 주름살 형성의 주요 원인으로 작용한다. 광노화된 피부에서는 교원질을 분해하는 MMP-1, -2, -9와 같은 MMPs의 발현 증가로 교원질의 양이 감소되어 주름이 형성된다(27). KSD E4-3이 UV에 의해 발현이 증가되는 MMP-1에 미치는 영향을 알아보기 위하여 western blot analysis를 수행하였다. 그 결과 KSD E4-3은 농도 의존적으로 MMP-1의 발현 저해 효과를 나타내었다(Fig. 4A). 또 UV 조사 하에서 KSD E4-3이 keratinocytes인 HaCaT 세포주가 분비하는 MMP-2와 MMP-9에 미치는 영향을 zymography로 평가하였다. KSD E4-3은 MMP-2와 MMP-9의 효소적 활성을 저해하였으며(Fig. 4B), western blot analysis를 통해 세포 내 단백질 발현에 미치는 영향을 평가한 결과, KSD E4-3은 MMP-2와 MMP-9의 단백질 발현을 농도 의존적으로 저해하였다(Fig. 4C). KSD E4-3은 노화가 진행되면서 피부 탄력을 유지하는 구성단백질 파괴에 관여하는 MMPs의 효소적 활성과 발현을 저해하는 것을 확인하였다. 이는 KSD E4-3이 피부 탄력을 유지하여 노화에 따른 주름 생성을 억제할 수 있는 가능성이 높을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 한방 발효주 주박의 피부 생리 기능 활성을 알아보기 위해 주박 추출물 및 분획물을 준비하고 항산화, 미백 및 주름 개선 효과를 조사하였다. 그 중 한방 발효주 주박의 에틸아세테이트 분획물(KSD E4-3)이 가장 우수한 항산화 효과를 나타내었으며 이는 다양한 약제의 발효에 의한 효과로 사료된다. KSD E4-3은 tyrosinase 활성 억제

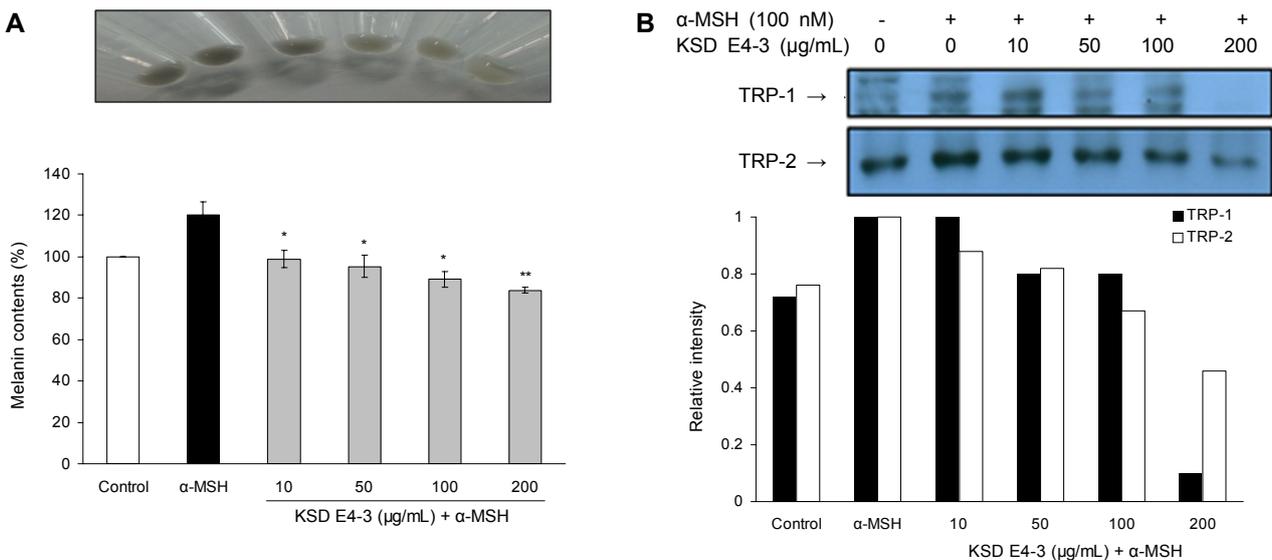


Fig. 3. Inhibitory effects of KSD E4-3 on melanin biosynthesis. (A) Melanin contents were determined in B16F10 cells treated with KSD E4-3 or α-MSH for 48 hr. (B) B16F10 cells were treated with KSD E4-3 or α-MSH for 48 hr. After immunoblotting, the expression levels of TRP-1, -2 were identified by their antibodies. Data represent mean±SD of three independent observations performed in triplicate. **P*<0.05 and ***P*<0.01 compared to α-MSH.

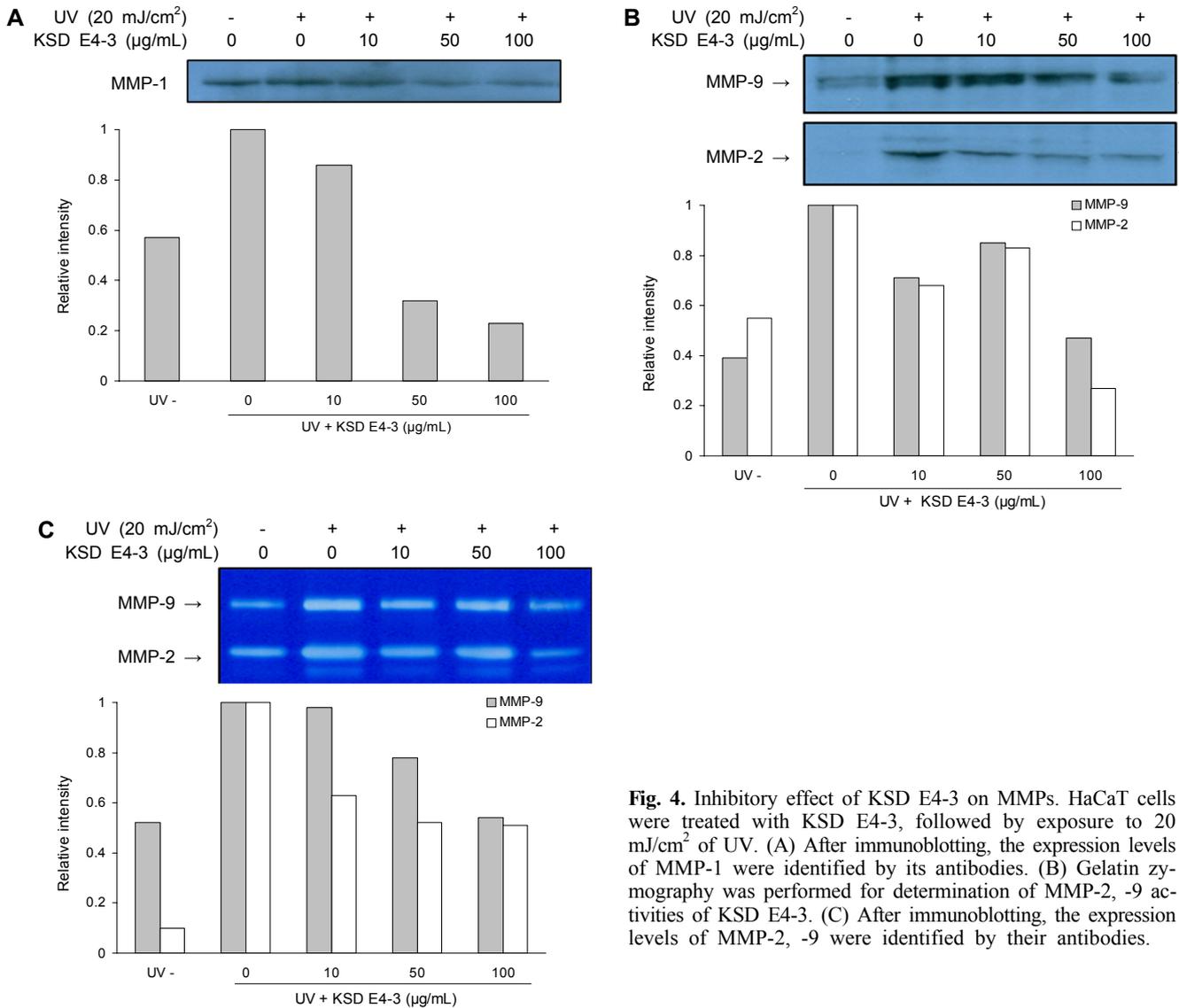


Fig. 4. Inhibitory effect of KSD E4-3 on MMPs. HaCaT cells were treated with KSD E4-3, followed by exposure to 20 mJ/cm² of UV. (A) After immunoblotting, the expression levels of MMP-1 were identified by its antibodies. (B) Gelatin zymography was performed for determination of MMP-2, -9 activities of KSD E4-3. (C) After immunoblotting, the expression levels of MMP-2, -9 were identified by their antibodies.

및 tyrosine을 기질로 melanin이 형성되는 pathway에 관여하는 주요한 인자인 TRP-1과 TRP-2를 저해하는 작용 기전을 통해 피부 색소침착의 주요 원인 물질인 melanin 생합성을 농도 의존적으로 저해하는 것을 확인하였다. 또한 KSD E4-3은 피부의 keratinocyte가 생성, 분비하는 MMP-1, -2, -9의 발현을 억제하여 UV 조사에 의한 피부 광노화에 따른 피부 주름 생성을 억제할 수 있음을 확인하였다. 이상의 결과를 종합하면 한방 발효주 주박에서 추출한 KSD E4-3은 피부 미백 및 주름 개선에 우수한 효과를 나타내고 있으므로 기능성 화장품의 주요한 소재로 이용 가치가 높을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2012년도 농림수산식품부 고부가가치식품기술개발사업(과제번호 112073-3)에 의해 수행되었으며, 이에

감사드립니다.

REFERENCES

- Gilchrest BA. 1989. Skin aging and photoaging: an overview. *J Am Acad Dermatol* 2: 610-613.
- Kang KS, Kim ID, Kwon RH, Heo YY, Oh SH, Kim MA, Jung HJ, Kang HY, Ha BJ. 2007. The evaluation of anti-wrinkle effects in oriental herb extract. *J Life Sci* 17: 1147-1151.
- 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.
- Lee BG, Kim JH, Ham SG, Lee CE. 2014. Study on biological activities of extracts for cosmeceutical development from *Lagerstroemia indica* L. branch. *Korean J Plant Res* 27: 29-34.
- Kim DS, Kim DH, Oh MJ, Lee KG, Kook MC, Park CS. 2010. Antiaging and whitening activities of ethanol extract

- of Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) by-product. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 36: 137-143.
6. Cho SY, Park JW, Rhee C. 1998. Edible films from protein concentrates of rice wine meal. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1097-1106.
 7. Lee HS, Hong KH, Yoon CH, Kim JM, Kim SM. 2009. Effect of Korean turbid rice wine (*Takju*) lees extract on blood glucose in the *db/db* mouse. *Korean J Food Culture* 24: 219-223.
 8. Yang HJ, Ahn YJ, Kim JH, Park SN. 2008. Antioxidative activity and component analysis of *Quercus glauca* leaf extracts. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 34: 189-200.
 9. Hong ES, Ahn GW, Jo BK. 2008. The study on the potential anti-aging properties of *Prunella vulgaris* extracts *in vitro* and *in vivo*. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 34: 129-135.
 10. Kim SM, Kim EH, Song DH, Jung YS, Jeon HJ, Choi YK, Kim HJ. 2013. Extraction and fermentation of rice wine lees for the development of cosmetic ingredients. *J Kor Soc Cosm* 19: 501-508.
 11. Seo GU, Choi SY, Kim TW, Rye SG, Park JH, Lee SC. 2013. Functional activities of Makgeolli by-products as cosmetic materials. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 505-511.
 12. Furuno K, Akasako T, Sugihara N. 2002. The contribution of the pyrogallol moiety to the superoxide radical scavenging activity of flavonoids. *Biol Pharm Bull* 25: 19-23.
 13. No JK, Soung DY, Kim YJ, Shim KH, Jun YS, Rhee SH, Yokozawa T, Chung HY. 1991. Inhibition of tyrosinase by green tea components. *Life Sci* 65: PL241-246.
 14. Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding *Anal Biochem* 72: 248-254.
 15. Cho EK, Kim HY, Byeon HJ, Kim SW, Choi YJ. 2010. Nitrite scavenging and alcohol metabolizing activities of hot water extract from *Makgeoly* and its angiotensin converting enzyme inhibitory effect. *J Life Sci* 20: 768-774.
 16. Ahn YJ, Won BR, Kang MK, Kim JH, Park SN. 2009. Antioxidant activity and component analysis of fermented *Lavandula angustifolia* extracts. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 35: 125-134.
 17. Ahn HY, Cha JY, Cho YS. 2012. Biological activity and chemical characteristics of fermented *Acanthopanax senticosus* by mold. *J Life Sci* 22: 1704-1711.
 18. Yoon JH, Shim JS, Cho Y, Baek NI, Lee CW, Kim HS, Hwang JK. 2007. Depigmentation of melanocytes by isopanduratin A and 4-hydroxypanduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* ROXB. *Biol Pharm Bull* 30: 2141-2145.
 19. Marmol V, Beermann F. 1996. Tyrosinase and related protein in mammalian pigmentation. *FEBS Lett* 381: 165-168.
 20. Lee SJ, Kwon YY, Cho SW, Kwon HS, Shin WC. 2013. Effects of Ehwa Makgeolli containing oriental herbs on skin whitening and wrinkles. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 550-555.
 21. Choi JH, Choi JH, Park SY, Kim JH, Jeong MY. 2010. Effects of *Lycii fructus* extracts (LFE) on skin whitening and elasticity using melanoma cells. *J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol* 27: 58-67.
 22. Kim IC. 2008. Antioxidative properties and whitening effects of the *Polygoni Multiflori Radix*, *Polygonati Rhizoma* and *Ephedrae Herba*. *J Korean Oil Chem Soc* 25: 533-538.
 23. Lee HJ, Kim SR, Kim JS, Moon C, Kim JC, Bae CS, Jang JS, Jo SK, Kim SH. 2006. The effect of red ginseng on epidermal melanocytes in ultraviolet B-irradiated mice. *J Ginseng Res* 30: 188-193.
 24. Lee HJ, Do JR, Kwon JH, Kim HK. 2012. Physiological properties of *Corni fructus* extracts based on their extraction condition. *Korean J Food Preserv* 19: 271-277.
 25. Jung HW, Choi JY, Lee JG, Choi EH, Oh JS, Kim DC, Kim JA, Park SH, Son JK, Lee SH. 2007. Isolation of melanogenesis inhibitors from Cinnamomi cortex. *Kor J Pharmacogn* 38: 382-386.
 26. Loo WT, Chen JP, Chow LW, Chou JW. 2007. Effects of Shugansanjie Tang on matrix metalloproteinases 1, 3 and 9 and telomerase reverse transcriptase expression in human breast cells *in vitro*. *Biomed Pharmacother* 61: 601-605.
 27. Seo JY, Cho KH, Eun HC, Chung JH. 2001. Skin aging from phenotype to mechanism. *Korean J Invest Dermatol* 8: 187-194.