

아가위 열매 에탄올 추출물의 항산화 및 미백 효능

박성진¹ · 권성필² · 나영아³

¹한림성심대학교 관광외식조리학과/생물소재연구소

²(주)제이앤팜유한책임회사

³을지대학교 식품산업외식학과

Antioxidative Activities and Whitening Effects of Ethanol Extract from *Crataegus pinnatifida* Bunge Fruit

Sung-Jin Park¹, Sung-Pil Kwon², and Young-Ah Rha³

¹Department of Tourism Food Service Cuisine/Research Institute of Biomaterial, Hallym Polytechnic University
²JNPharm LLC.

³Department of Food Technology and Services, Eulji Univrsity

ABSTRACT This study investigated the antioxidative activity and whitening efficacy of *Crataegus pinnatifida* Bunge fruit 70% ethanol extract (CFE). The total polyphenol contents of CFE was 61.31 mg/g, and the total flavonoid contents was 25.42 mg/g. The electron donating ability of CFE at a concentration of 1,000 µg/mL was 85.80%. The ABTS radical scavenging activity, and reducing power of CFE at a concentration of 1,000 µg/mL were 17.3% and 0.31, relatively. The maximum permissible levels of CFE in melanoma cells were 100 µg/mL. CFE at 50 µg/mL reduced melanin contents by 8.5%. CFE at 1,000 µg/mL reduced intracellular tyrosinase activity by 46.83%. Collectively, the results of this study suggest that CFE effectively inhibited tyrosinase activity, whereas melanin synthesis was weak. These results suggest that *Crataegus pinnatifida* Bunge fruit could be used as a whitening agent and antioxidant resources for functional foodstuffs, cosmetics, and beauty industrial materials.

Key words: *Crataegus pinnatifida* Bunge fruit, melanoma cell, antioxidative activity, tyrosinase inhibitory activity, total polyphenol

서 론

과학의 발전 및 높아지는 생활 수준에 따라 기능성 활성물질 중 노화 억제 및 건강증진에 관한 연구가 광범위하게 진행되고 있으며(1), 제품 소재 활용을 위한 항산화 등의 기능성 연구도 지속해서 이루어지고 있다(2-6). 체내에 존재하는 항산화 시스템에 의해 인체에서 생성되는 활성산소는 저해와 방어가 가능하지만, 산업의 발전에 따라 각종 환경요인(매연, 환경호르몬, 알코올 및 흡연 등)은 활성산소의 양을 증가시켜 체내의 항산화 시스템만으로는 산화적 스트레스에 의해 발생하는 손상을 방어하지 못할 수 있다(7). 불안정하고 반응성이 매우 높은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 고분자 단백질과 DNA 변형 및 생체막 손상 및 조직과 기관을 손상시켜 질병을 야기한다(8,9). 과거에는 ROS를 제거하기 위해 효과와 경제성이 뛰어난 합성

항산화제인 butylated hydroxytoluene(BHT) 및 butylated hydroxyanisole(BHA)이 많이 사용됐으나, 최근 합성물질의 독성과 안전성의 문제가 야기되면서 사용량이 점점 감소하고 있다(10). 이에 따라 안전성이 확보된 천연물을 이용한 천연 항산화제 개발에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다(11). 인체 세포의 DNA는 하루에 약 10,000번의 산화적 공격으로 인해 각종 질병(노화, 암, 심장병 등)을 일으킨다(12). 또한, 항산화 영양성분(β-carotene, 비타민 E, 비타민 C 등)과 미량 원소(Se, Cu, Mn, Zn 등)와 총 페놀이 알려져 있는데 이들 미량성분의 항암효과는 항산화 능력에 기인하여 항암효과가 있는 것으로 알려져 있다(13).

우리나라 각지의 산야와 계곡에서 자생하는 아가위(*Crataegi fructus*)는 산사나무(*Crataegus pinnatifida* Bunge) 및 동속 근연식물의 성숙한 과실로서 장미과(Rosaceae)에 속하며, 유기산(citric acid, crataegolic acid, succinic acid, chlorogenic acid 등)과 flavonoids 화합물(quercetin, quercitrin, epicatechin, rutin 등)을 함유하며, 비타민과 카로틴이 풍부하고(14), 특유의 향과 맛(단맛, 신맛)을 함유하고 있으며 건위, 소화, 수렴, 진통, 살균, 살충 효능 및 숙취 예방과 triglyceride 대사 개선(15), low density lipopro-

Received 12 July 2017; Accepted 8 September 2017

Corresponding author: Sung-Jin Park, Department of Tourism Food Service Cuisine, Hallym Polytechnic University, Chuncheon, Gangwon 24210, Korea
E-mail: sjpark@hsc.ac.kr, Phone: +82-33-240-9234

tein(LDL) 대사 향상(16) 등 지질대사를 개선하는 데 뛰어난 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

또한, 현대 과학의 발달로 의학적 효능을 포함하는 기능성 화장품들이 지속해서 개발되면서 의·과학을 접목한 기능성 화장품들이 생산·판매되고 있으며, 화학합성 화장품의 부작용과 반응에 대한 과민성 등이 보고되면서 화장품 원료의 천연소재화에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 하지만 아직도 많은 한약재에 대한 생리활성 연구는 비교적 많이 되어 있지 않아 다양한 생리활성 연구는 매우 중요한 자료로써 제공될 것이라고 생각된다. 본 연구에서는 아가위 열매 에탄올 추출물의 미백 효능 및 항산화 활성을 측정하여 항산화 및 화장품 천연소재로서의 활용 가치를 검토하였다.

재료 및 방법

재료

강원도 춘천에서 2016년 9월 채취한 아가위 열매(*Crataegi fructus*)를 선별·세척하고 풍건한 후 120 mesh 이하로 분쇄하여 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 아가위 분말에 10배의 70% 에탄올을 가한 후 4시간 환류추출시키고, 추출액을 여과한 후 감압농축(CCA-1100, Eyela, Tokyo, Japan)하여 -70°C에서 급속동결건조(PVTF A 10AT, ILSIN, Gyeonggi, Korea) 과정을 거쳐 분말 상태로 제조한 후 생리활성 물질 함량분석 및 미백활성 실험에 사용하였으며, 70% 에탄올로 추출한 추출물의 수율은 17.2%였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 추출물의 페놀성 화합물에 의해 Folin-Ciocalteu's phenol reagent가 몰리브덴 청색으로 환원되는 원리를 이용하여 측정하였다(17). 추출물 1 mL에 1 mL의 10% Folin-Ciocalteu's phenol reagent와 1 mL의 2% Na₂CO₃ 용액을 첨가 혼합 후 실온에서 1시간 동안 방치한 다음 상층액을 microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 이용하여 검량선(Y=2.0637X+0.05, R²=0.9996)에 의해 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 추출물 1 mL에 0.15 mL의 5% sodium nitrite를 첨가하여 실온 6분간 방치한 후 0.3 mL의 10% aluminium chloride를 가하고 실온에서 5분간 방치한 후 1 mL의 1 N NaOH를 첨가하고 교반한 다음 510 nm에서 흡광도를 측정(18)하였으며, rutin(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 0~200 ppm 농도로 작성한 검량선(Y=14.826X+0.0337, R²=0.9985)으로 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

전자공여능

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 추출물에 대한 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH)의 전자공여 효과로 각 추출물의 환원력을 측정하였다. 즉 1 mL 에탄올, 10 μL 추출물, 100 mM sodium acetate buffer(pH 5.5) 990 μL를 넣은 시험관에 0.5 mL의 0.5 mM DPPH 용액을 넣어 혼합 후 냉암실에서 5분간 반응 유도한 다음, 남아있는 라디칼의 농도를 UV spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 측정하였다(19).

$$EDA (\%) = \left(1 - \frac{As}{Ac}\right) \times 100$$

As: 추출물 첨가구의 흡광도

Ac: 추출물 무첨가구의 흡광도

ABTS 라디칼 공여능

2,2'-Azion-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS) 라디칼 소거능 측정은 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate를 제조한 후 희석된 ABTS·⁺ 용액 1 mL에 농도별로 제조된 추출물 20 μL를 첨가한 다음 30분 후 흡광도의 변화를 측정하였다(20). 항산화 활성은 시료를 녹인 용매인 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 대조군으로 대조군에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

$$ABTS \text{ 라디칼 소거능} = \left(1 - \frac{A_{\text{test}}}{A_{\text{Control}}}\right) \times 100$$

환원력 측정

1 mL의 추출물에 200 mM 인산 완충액(pH 6.6) 및 1% potassium ferricyanide를 각 1 mL씩 차례로 가하여 혼합한 후 50°C의 항온수조상에서 20분간 반응시켰다. 15% trichloroacetic acid 용액 1 mL를 가하고 15분간 원심분리(12,000×g) 한 후 1 mL의 상층액에 1 mL 증류수와 ferric chloride를 첨가 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었다(21).

Tyrosinase 저해 활성

Mushroom tyrosinase=150 unit(Sigma-Aldrich Co.) 150 μL, L-tyrosinase 225 μL(2.5 mM), 0.4 M Hepes buffer(225 μL, pH 6.8), ethanol 300 μL 용액을 혼합 후 배양 전후 475 nm에서 흡광도를 각각 측정하여(22) tyrosinase 가 억제되는 정도를 다음과 같이 구하였다.

$$Tyrosinase \text{ inhibition } (\%) = \frac{(D - C) - (B - A)}{(D - C)} \times 100$$

A와 B: 각각 시료를 가지는 용액의 배양 전과 배양 후의 흡광도

C와 D: 각각 시료를 넣지 않은 용액(기준 용액)의 배양 전과 배양 후의 흡광도

세포배양

마우스 흑색(B16F10) 세포는 배양세포에 0.25% trypsin 용액을 희석한 후 세포를 분리하고 DMEM 배지에 FBS(10%)와 penicillin/streptomycin(1%, 100 U/mL)을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에 적응시켜 사용하였다(23).

MTT assay에 의한 세포 생존 능력 측정

3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 측정은 세포를 1×10⁴ cells/well이 되게 96-well plate에 180 µL씩 분주하고, 추출물을 농도별로 20 µL 처리하여 48시간 배양한 후 MTT 용액(5 mg/mL) 20 µL를 첨가하여 3시간 반응시킨 다음 배양액을 제거하고 200 µL의 DMSO를 각 well에 첨가하여 실온에서 30분간 반응시킨 뒤 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 (1-시료의 흡광도/대조구의 흡광도)×100에 의하여 생존율을 계산하였다(24).

Melamin 저해 활성

B16F10 melanoma cell을 5×10⁴ cells/well이 되도록 6 well에 접종·배양하고, 각 well에 추출물을 처리한 후 48시간 동안 배양한 다음 2회 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 후 원심분리 하고 세포침전물을 제조하였다. DMSO(10%)가 첨가된 1 N NaOH 용액(150 µL)을 첨가하고 60°C에서 1시간 용해하여, 405 nm에서 흡광도를 측정 후 실험군의 멜라닌 양은 무첨가군의 멜라닌 양에 대한 백분율로 계산하여 나타내었다(25).

통계처리

통계처리는 SAS version 9.3(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 분석하였다. 유의성 분석은 one-way ANOVA 검정을 실시하였으며, Duncan의 다중범위 검정법(Duncan's multiple range test)으로 유의성 $P < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

식물성 식품 속에 함유된 페놀화합물의 기능은 다양하며, 식물성 식품에 함유된 페놀성 분자들은 체내에서 항산화, 항비만 및 항염증 등과 같은 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(26). Polyphenolic substance로서 플라보노이드류는 화학구조에 따라 flavonols, flavones, catechins, isoflavones 등으로 분류되며, 물과 에탄올에 대한 용해도가 다르고 과산화 지질 생성 억제 등의 생화학적 활성은 구조적 차이에 의해 일어나는 것으로 알려져 있다(27). 70% 에탄올의 아가위 열매 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 Table 1에 나타내었으며 총 페놀 함량은 61.31 mg/g, 총 플라보노이드 함량은 25.42 mg/g으로 나타내었다.

Table 1. Total polyphenol and flavonoid contents of *Crataegi fructus* 70% ethanol extracts

Sample	<i>Crataegi fructus</i> 70% ethanol extract
Phenol (GAE ¹⁾ mg/g)	61.31±1.90
Flavonoid (RE ²⁾ mg/g)	25.42±1.22

¹⁾Gallic acid equivalent.

²⁾Rutin equivalent.

Values are mean±SE of triplicates.

20여종의 약용식물류의 총 페놀과 플라보노이드 함량과 항산화 활성의 상관관계에서 폴리페놀의 함량이 플라보노이드보다 많을수록 항산화 활성이 높다고 보고한 결과(28)와 유사한 결과를 나타내었다. 페놀 화합물 함량이 높을수록 식물 기원의 시료에서 항산화 활성이 높으며(17), 식물시료의 변색에 주된 영향을 미치는 인자로 알려져 있다(29). 아가위 열매 추출물의 항산화에 대한 효과가 있는 것으로 생각되며 추후 항산화 작용에 대한 깊은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

전자공여능

일반적으로 특정 물질에 대한 항산화 활성을 측정하는 방법에는 여러 가지가 있으나 그중에서 DPPH free radical 소거 활성법은 간단하고 대량으로 측정이 가능하며, 비교적 간단하고 짧은 시간 내에 항산화 활성을 측정할 수 있어 널리 사용되고 있다(30). 아가위 열매 추출물의 DPPH 소거능은 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/mL의 농도에서 각각 13.24, 19.26, 28.90, 60.64 및 85.80%로 확인되었다(Fig. 1). 식용 및 한약재로 상용하는 아가위나무열매는 우수한 전자공여 활성을 나타내므로 향후 천연 항산화제 소재 개발에 유용하게 사용될 것으로 생각된다. 화장품 소재로 많이 이용되고 있는 맥문동 뿌리의 물과 에탄올 추출물이 1,000 µg/mL의 농도에서 각각 12.78%와 28.9%의 전자공여 활성을 나타낸

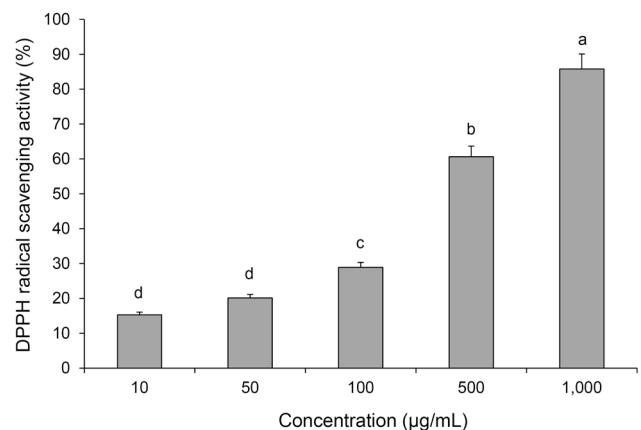


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of *Crataegi fructus* 70% ethanol extracts. Each substance was evaluated on its ability to provide electrons to the free radical DPPH. Values represent the mean±SE of three independent measurements.

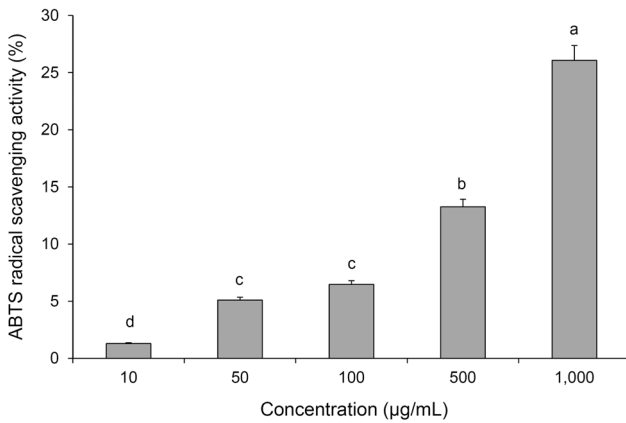


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of *Crataegi fructus* 70% ethanol extracts. Values represent the mean±SE of three independent measurements.

다는 보고(31)와 비교하면 아가위 추출물은 맥문동보다 약 2~3배 높은 활성을 나타내었다. 이는 아가위 추출물에서 우수한 free radical에 의한 노화 억제 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각된다.

ABTS 라디칼 소거능

ABTS assay는 potassium persulfate와의 반응으로 생성된 peroxide radical 성격의 ABTS·⁺가 항산화성 물질에 의해 제거되면서 청록색이 탈색되는 것을 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법으로 양이온 라디칼이 소거되는 것을 이용하는 방법이다(32). 아가위 열매 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/mL의 농도에서 각각 2.0, 5.1, 6.1, 8.3 및 17.3%로 확인되었다(Fig. 2). 하지만 골든키위, 배, 포도, 자두 껍질 추출물이 99.5~99.9%의 ABTS 라디칼 소거능을 나타내었다는 보고와 비교하면 매우 낮은 ABTS 라디칼 소거능을 나타내었다(32).

환원력

환원력은 시료가 Fe³⁺에 수소를 공여하여 라디칼을 안정화시킴으로써 Fe²⁺로 환원되는 것을 이용한 방법으로, 환원력을 평가한 655 nm의 값은 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/mL의 농도에서 각각 0.01, 0.06, 0.07, 0.23 및 0.31을 나타내어 농도 의존적으로 증가함을 나타내었다(Fig. 3).

세포생존 능력 측정

세포 수준의 연구에 많이 이용되고 있는 MTT assay는 cell proliferation과 viability의 *in vitro* 분석에 매우 유용하게 사용되고 있으며, 아가위 열매 추출물에 의한 melanoma 세포의 생존율을 확인한 결과(Fig. 4), 추출물이 10, 25, 50, 100 µg/mL 농도에서 100% 이상의 세포 생존율을 확인하였다. 따라서 B16F10 세포에서 세포독성이 없어 50 µg/mL 농도 이하에서 melanin 생합성 저해 실험을 진행하였다.

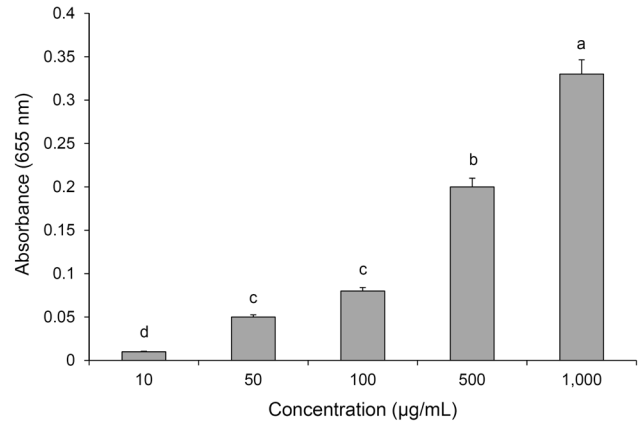


Fig. 3. Reducing power of *Crataegi fructus* 70% ethanol extracts. Values represent the mean±SE of three independent measurements.

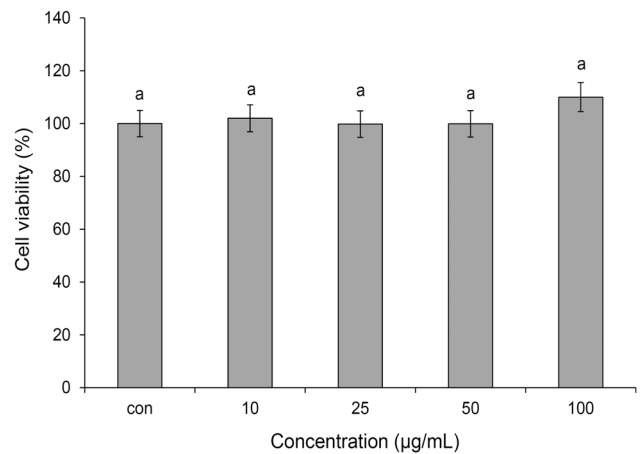


Fig. 4. Cell viability of 70% ethanol extracts from *Crataegi fructus* on B16F10 melanoma cell. Values represent the mean±SE of three independent measurements.

Tyrosinase 저해 활성 확인

Melanin 생성 과정에 있어서 핵심적인 요소는 피부 내에서 tyrosinase이다. 이 효소는 아미노산인 tyrosine으로 시작되는 멜라닌 생합성 과정 중에서 tyrosine으로부터 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine(DOPA), DOPA로부터 DOPA quinone 그리고 dihydroxyindole(DHI)로부터 melanin을 형성한다(33). 아가위 열매 추출물을 대상으로 tyrosinase 저해 활성을 측정하였다(Fig. 5). 아가위 열매 추출물 100, 500, 1,000 µg/mL에서 각각 22.29%, 33.36% 및 46.83%의 저해율을 나타냈으며, tyrosinase 저해 활성 결과가 낮았지만 아가위 열매 추출물은 천연소재로서의 미백기능에 효과적인 가치가 있음을 기대할 수 있다. 일부 생약과 해조류의 tyrosinase 저해 활성 측정 결과 치자 36%, 인삼 27%, 지실 15%, 매생이 21%, 청각 11% 그리고 미역 7%의 저해율을 보고(34)하였으며, 제주산 식물을 이용한 tyrosinase 저해연구에서 1,000 µg/mL의 농도에서 10% 미만의 효과를 나타낸 결과(35)와 비교하여 아가위 열매 추출물의 활성

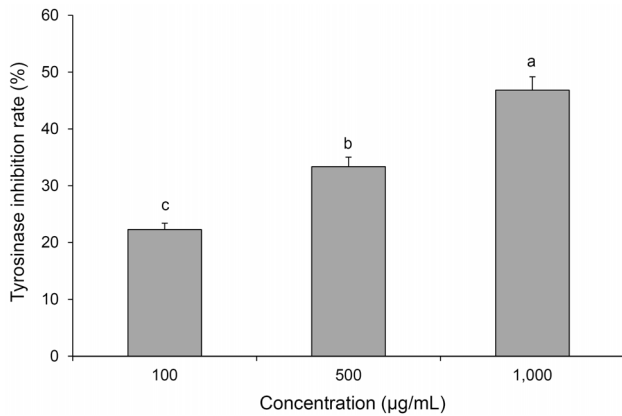


Fig. 5. Tyrosinase inhibition rate of 70% ethanol extracts from *Crataegi fructus*. Values represent the mean±SE of three independent measurements.

이 우수함을 확인할 수 있었으며, 돌단풍 잎의 피부미백 효과와 유사한 결과를 나타내었다(36).

마우스 흑색 세포(B16F10)에서의 melanin 생합성 저해 활성 측정

Melanin은 세포 내의 소기관인 ribosome에서 tyrosinase라는 효소의 생합성에서 합성되기 시작한다. 이 효소의 작용으로 아미노산의 일종인 tyrosine에서 몇 단계의 합성을 거쳐 흑색소포 표면에 침착하여 검고 갈색의 작은 melanin 입자가 만들어진다(37). 아가위 열매 추출물의 melanoma 세포에서의 melanin 생성 억제 효과를 측정된 결과는 Fig. 6에 나타내었다. 측정 결과 아가위 열매 추출물은 50 µg/mL의 농도에서 무침가군보다 멜라닌 생성을 8.5% 저해하였다. 이는 유럽밤나무 꽃(chestnut flower) MeOH, EtOH, water 추출물을 통한 melanin 저해 연구에서 보고된 50 µg/mL 농도에서 melanin 생합성 저해는 9, 11, 8%로 아가위 열매 추출물과 비슷한 결과를 보였고(38), 초음파 병행을 통한 병풀(*Centella asiatica* L.) EtOH, water 추출

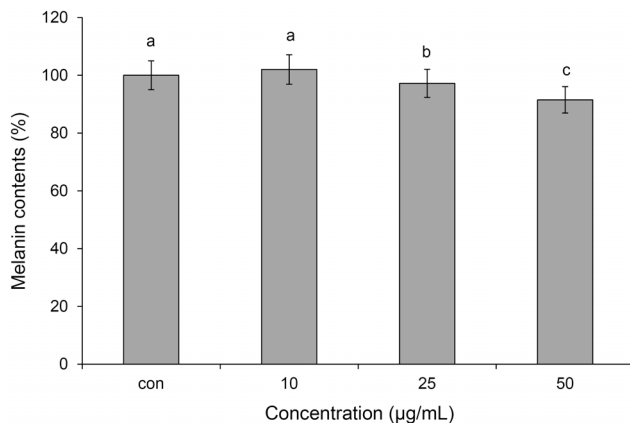


Fig. 6. Inhibition melanin synthesis of 70% ethanol extracts from *Crataegi fructus*. Values represent the mean±SE of three independent measurements.

물의 melanin 생합성 저해는 200 µg/mL의 농도에서 10% 이하의 효과를 나타낸 결과(39)와 비교하면 아가위 열매 추출물은 피부 색소 침착에 효능이 있는 미백 소재로 이용할 것이라 생각된다.

요 약

본 연구에서는 아가위 열매(*Crataegi fructus*)를 70% 에탄올로 추출하여 추출물의 항산화능과 미백 효과에 대해 알아봄으로써 기능성 미백 화장품의 천연 소재로서의 가능성을 알아보았다. 아가위 열매 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 61.31 mg/g, 플라보노이드 함량은 25.42 mg/g으로 나타났다. 전자공여능은 1,000 µg/mL에서 85.80%, ABTS 라디칼 소거능은 17.3%, 환원력은 0.31로 나타났다. Melanoma 세포에 대한 아가위 열매 에탄올 추출물의 최대 허용 농도는 100 µg/mL으로 확인되어 세포독성이 미약함을 확인하였다. 멜라닌 생성 저해능은 50 µg/mL에서 8.5%, 세포 내 tyrosinase 활성 저해능은 1,000 µg/mL에서 46.83%를 나타내었다. 아가위 열매 추출물은 약재와 식용 및 약용식물로 이용되는 여러 천연물보다 다량의 페놀화합물 및 각종 생리활성 성분을 함유하였으며 항산화 활성 및 미백 효과를 나타내며 추후 용매별 분획물을 사용하여 항산화 및 미백 효능을 나타내는 지표성분의 확인의 연구가 진행된다면 연구 결과를 바탕으로 기능성 제품의 첨가제나 천연 항산화 소재 및 기능성 미백 화장품 소재로서 활용 가능하리라 생각된다.

감사의 글

본 연구에서는 중소기업청에서 실시한 2016년도 산학연협력 기술개발사업지원(과제번호 C0442242)에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Goldberg I. 1994. *Functional foods*. Chapman & Hall Press, New York, NY, USA. p 3-550.
- Lee KK, Kim JH, Cho JJ, Choi JD. 1999. Inhibitory effects of 150 plant extracts on elastase activity, and their anti-inflammatory effects. *Int J Cosm Sci* 21: 71-82.
- Kim SH, Jung H, Shin YC, Ko SG. 2008. Research of traditional herbal medicines for anti-aging, inhibition effect of wrinkle effect in the skin. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 22: 691-698.
- Ha BG, Park MA, Lee CM, Kim YC. 2016. Anti-melanogenic effects of *Aceriphyllum rossii* leaf ethanol extract on melanocytes. *J Invest Cosmetol* 12: 9-14.
- Hwang JY, Lee HH, Jang JS, Kim YC. 2015. Skin-whitening efficacy of *Helianthus tuberosus* ethanol extract and its mechanism of action. *J Invest Cosmetol* 11: 175-183.
- Beak HG, Hwang JY, Hong SH, Kim YC. 2015. Whitening efficacy of *Melilotus alba* Medicus ethanol and black garlic water extracts in melan-a cells. *J Invest Cosmetol* 11: 41-46.

7. Gutteridge JMC, Halliwell B. 1994. Antioxidants. In *Nutrition, Health, and Disease*. Oxford University Press, London, UK. p 1-62.
8. Lee OH, Lee BY, Lee J, Lee HB, Son JY, Park CS, Shetty K, Kim YC. 2009. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresour Technol* 100: 6107-6113.
9. Yamashita A, Soga Y, Iwamoto Y, Asano T, Li Y, Abiko Y, Nishimura F. 2008. DNA microarray analyses of genes expressed differentially in 3T3-L1 adipocytes co-cultured with murine macrophage cell line RAW264.7 in the presence of the toll-like receptor 4 ligand bacterial endotoxin. *Int J Obes* 32: 1725-1729.
10. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
11. Kalt W. 2006. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidant. *J Food Sci* 70: R11-R19.
12. Ames BN. 1984. Dietary carcinogens and anti-carcinogens. *J Toxicol Clin Toxicol* 22: 291-301.
13. Park SJ, Seong DH, Park DS, Kim SS, Gou J, Ahn JH, Yoon WB, Lee HY. 2009. Chemical compositions of fermented *Codonopsis lanceolata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 396-400.
14. Hong SS, Hwang JS, Lee SA, Han XH, Ro JS, Lee KS. 2002. Inhibitors of monoamine oxidase activity from the fruits of *Crataegus pinnatifida* Bunge. *Kor J Pharmacogn* 33: 285-290.
15. Kwon HJ, Hyun SH, Choung SY. 2005. Traditional Chinese Medicine improves dysfunction of peroxisome proliferator-activated receptor alpha and microsomal triglyceride transfer protein on abnormalities in lipid metabolism in ethanol-fed rats. *Biofactors* 23: 163-176.
16. Chu CY, Lee MJ, Liao CL, Lin WL, Yin YF, Tseng TH. 2003. Inhibitory effect of hot-water extract from dried fruit of *Crataegus pinnatifida* on low-density lipoprotein (LDL) oxidation in cell and cell-free systems. *J Agric Food Chem* 51: 7583-7588.
17. Duval B, Shetty K. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J Food Biochem* 25: 361-377.
18. Abdel-Hameed ESS. 2008. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus species* leaf samples. *Food Chem* 114: 1271-1277.
19. Lee HH, Lee SY. 2008. Cytotoxic and antioxidant effects of *Taraxacum coreanum* Nakai. and *T. officinale* WEB. extracts. *Korean J Medicinal Crop Sci* 16: 79-85.
20. Re Roberta, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* 26: 1231-1237.
21. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
22. Kim KS, Kim JA, Eom SY, Lee SH, Min KR, Kim Y. 2006. Inhibitory effect of piperlonguminine on melanin production in melanoma B16 cell line by downregulation of tyrosinase expression. *Pigment Cell Res* 19: 90-98.
23. Michikawa M, Lim KT, McLarnon JG, Kim SU. 1994. Oxygen radical-induced neurotoxicity in spinal cord neuron cultures. *J Neurosci Res* 37: 62-70.
24. Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. 1987. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936-942.
25. Hosoi J, Abe E, Suda T, Kuroki T. 1985. Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Res* 45: 1474-1478.
26. Cho YJ, Ju IS, Kim BC, Lee WS, Kim MJ, Lee BG, An BJ, Kim JH, Kwon OJ. 2007. Biological activity of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 50: 198-203.
27. Middleton E Jr, Kandaswami CC. 1994. Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technol* 48: 115-119.
28. Kim HK, Kwon YJ, Kim YE, Nahmgung B. 2004. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Aster scaber* Thunb extracts with different microwave-assisted extraction conditions. *Korean J Food Preserv* 11: 88-93.
29. Choi KS, Lee HY. 1999. Characteristics of useful components in the leaves of *baechohyang* (*Agastache rugosa*, O. Kuntze). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 326-332.
30. Que F, Mao L, Zhu C, Xie G. 2006. Antioxidant properties of Chinese yellow wine, its concentrate and volatiles. *LWT - Food Sci Technol* 39: 111-117.
31. Seo SJ, Kim NW. 2010. Physiological activities of leaf and root extracts from *Liriope platyphylla*. *Korean J Food Preserv* 17: 123-130.
32. Li H, Choi YM, Lee JS, Park JS, Yeon KS, Han CD. 2007. Drying and antioxidant characteristics of the Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom in a conveyer-type far-infrared dryer. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 250-254.
33. Lee MY, Yoo MS, Whang YJ, Jin YJ, Hong MH, Pyo YH. 2012. Vitamin C, total polyphenol, flavonoid contents and antioxidant capacity of several fruit peels. *Korean J Food Sci Technol* 44: 540-544.
34. Cho YJ. 2004. Study on the tyrosinase activity inhibition and free radical scavenging activity of natural materials. *MS Thesis*. Sookmyung Women's University, Seoul, Korea. p 19-54
35. Choi BW, Lee BH, Kang KJ, Lee ES, Lee NH. 1998. Screening of the tyrosinase inhibitors from marine algae and medicinal plants. *Kor J Pharmacogn* 29: 237-242.
36. Ha HG, Park MA, Lee, CM, Kim YC. 2016. Anti-melanogenic effects of *Aceriphyllum rossii* leaf ethanol extract on melanocytes. *J Invest Cosmetol* 12: 9-14.
37. Lee NH, Lee SJ, Jung DS, Bu HJ, Yang HC, Riu KZ. 2001. Screening of the tyrosinase inhibition and hyaluronidase inhibition activities, and radical scavenging effects using plants in Cheju. *Kor J Pharmacogn* 32: 175-180.
38. Sapkota K, Park SE, Kim JE, Kim S, Choi HS, Chun HS, Kim SJ. 2010. Antioxidant and antimelanogenic properties of chestnut flower extract. *Biosci Biotechnol Biochem* 74: 1527-1533.
39. Ha JH, Kwon MC, Kim SS, Jeong MH, Hwang B, Lee HY. 2010. Enhancement of skin-whitening and UV-protective effects of *Centella asiatica* L. urban by ultrasonification process. *Korean J Medicinal Crop Sci* 18: 79-85.