

고등식물로부터 피부멜라닌 생성에 관여하는 티로시나제 활성 억제물질의 탐색

이승호* · 박지수 · 김소영 · 김진준 · 정시련

영남대학교 약학대학

(Received July 15, 1997)

The Screening of the Inhibitory Compounds on Tyrosinase Activity from the Natural Product

Seung-Ho Lee, Ji Soo Park, So Young Kim, Jin Joon Kim and See Ryun Chung
College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

Abstract—Tyrosinase is known to accelerate the melanin polymer biosynthesis in melanocyte, so tyrosinase inhibitors hinder the melanin polymer biosynthesis and are useful not only for the material used in cosmetics as skin-whitening agents but also as the remedy for disturbances in pigmentation. During our search for new melanin biosynthesis inhibitors from natural sources, 130 higher plants were tested for the inhibitory effect against tyrosinase activity by the mushroom tyrosinase assay. Among them, *Carex humilis* (IC₅₀, 10 µg/ml), *Sophora flavescence* (IC₅₀, 20~50 µg/ml) and *Styrax japonica* (IC₅₀, 10 µg/ml) inhibited the tyrosinase activity strongly.

Keywords □ Tyrosinase inhibitor, melanin polymer, pigmentation, *Carex humilis*, *Sophora flavescence*, *Styrax japonica*

기미, 주근깨 등 피부에 생기는 색소침착은 표피내에서의 melanin 색소의 증가에 기인하고 있고, melanin 색소는 표피기저층에 존재하는 melanocyte라고 불리는 색소세포내의 melanosome에서 생합성된다. 자연적으로 생성되는 melanin은 alkali 난용성의 흑색 melanin (eumelanin)과 alkali 가용성의 황색 내지는 적색 melanin (phaeomelanin)의 혼합물이다¹⁾. 일반적으로 melanin polymer라고 하면 eumelanin을 지칭할 때가 많으며, 최근 Prota²⁾, Pavel³⁾ 등의 연구에 의해 eumelanin은 이제껏 생각되어 왔던 5,6-dihydroxy indole 뿐만 아니라, 별개의 melanin monomer인 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid나, 각종 melanin 중간 대사산물로부터도 생성된다는 것을 알았다. 그러나 아직까지도 melanin의 주된 생성과정

은 tyrosine이 효소 tyrosinase에 의해 산화되어 dopa, dopaquinone이 되고 이것이 다시 dopachrome, 5,6-dihydroxy indole, indole 5,6-quinone을 형성하고 최종적으로 중합에 의하여 melanin polymer를 생성하는 것으로 되어 있다.

Melanin 색소생성에 관여하는 인자로는 tyrosinase 이외에도 dopachrome conversion factor, prostaglandin(PG), interferon(IFN) 또는 melanocyte stimulating hormone (MSH), Vit D₃, histamine 등이 보고되고 있다⁴⁾. 三島⁵⁾ 등은 melanin 생성 억제물질은 크게 두가지 type으로 분류하고 있다. 그 하나는 melanin 생성의 key enzyme인 tyrosinase 효소자체를 직접 억제하는 type이다. 또 하나는 세포로부터 분리한 tyrosinase에 대해서는 직접적인 억제를 나타내지 않지만 피부 색소세포내에 있어서의 melanin 생성을 억제하는 type이다. 후자는 tyrosinase의 합성억제(소의 태반추출물)⁶⁾, 유산⁷⁾, escu-

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 053-810-2818 (팩스) 053-811-3871

lin⁸⁾, tyrosinase 당쇄수식에 의한 성숙과정의 저해 (glucosamin, tunicamycin)⁹⁾, 세포독성(hydroquinone 등 각종 phenol, catechol 유도체)¹⁰⁾작용으로 대별된다. 이처럼 melanin 생성 mechanism이 복잡하고 다원적이기 때문에 *in vitro*에서 tyrosinase 활성 억제 실험 결과만으로 melanin 생성억제를 말하기에는 불충분하다. 그러나 *in vitro* 방법인 tyrosine 저해 실험과 배양색소세포를 이용한 실험은 신규 melanin 생성 억제물질을 효율적으로 screening하는 수단으로서, 또 실험물질의 melanin 생성억제역가와 작용기전을 이해하는데 필수적이다.

저자 등은 피부내에서 melanin생성에 key enzyme으로 알려져 있는 tyrosinase에 대하여 활성을 억제하는 물질을 고등식물로부터 탐색할 목적으로 본 연구를 실시하였다.

실험재료 및 방법

실험재료 - 본초강목등 한방서적에서 옛날부터 美顏을 목표로 사용되어온 것으로 소개되는 전통생약과 전국 각지에서 무작위로 채집한 고등식물을 130종 확보하였다. 확보된 시료식물은 충북대 약대 이경순 교수로부터 감정을 받아 사용하였다. 시료식물(약 300 g)을 MeOH로 추출하고 추출액은 감압하에서 완전히 농축하여 MeOH Ex를 만들었다. MeOH Ex를 물에 현탁시킨 후 동량의 CH₂Cl₂로 3회반복 진탕추출하여 CH₂Cl₂ fr.을 얻었다. 물층은 다시 동량의 EtOAc로 3회반복 추출하여 EtOAc fr.을 얻고 나머지를 H₂O fr.으로 하였다.

시약 및 기기 - Buffer (50 mM sodium phosphate buffer, pH 6.8), tyrosinase (sigma, 60U/ml buffer), L-tyrosine (sigma, 1.5 mM/buffer), L-dopa (sigma, 0.6 mM/buffer), UV/VIS spectrophotometer

Tyrosinase활성 억제실험 - tyrosinase는 두가지 기능(tyrosine hydroxylase, dopa oxidase)이 있으므로 assay 방법도 두가지가 있다. 그러나 tyrosine hydroxylase의 assay는 ³H-labeled tyrosine을 이용하므로 실험에 제약이 따르기 때문에 본 연구에서는 dopa oxidase의 방법을 채택하였다¹¹⁾. Dopaoxidase의 활성측정은 dopa를 기질로 하여 tyrosinase에 의하여 생성되는 반응산물인 dopachrome이 475 nm에서

흡광도를 나타내는 점을 이용하여 시행한다. 즉, 일정한 반응조건에서 생성된 dopachrome의 양을 A₄₇₅로 정량해서 tyrosinase의 활성을 측정하며 시료의 첨가에 의한 activity의 변화를 관찰하여 효소 활성저해 정도를 평가하였다.

구체적으로는 반응액에 L-tyrosine 900 μl, L-dopa 90 μl, 시료용액(0, 10, 20, 50, 100, 200 g/ml)을 가한다. Sample은 MeOH-H₂O(1:1)에 용해시키고 MeOH에 의한 enzyme 저해효과를 보정하기 위하여 측정하고자 하는 sample용액의 volume에 해당하는 MeOH-H₂O(1:1)용액을 가하여 control로 한다. 각 반응액은 전체 volume이 1890 μl가 되도록 buffer를 가하고 tyrosinase 900 μl를 가한다. 이때 blank에는 enzyme용액 대신 buffer 900 μl를 넣어준다. 반응액을 37°C water bath에서 10분간 반응시킨 후 ice bath내에서 enzyme의 반응을 정지시키고 spectrophotometer를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정한다. 저해율은 아래와 같이 계산하고, enzyme의 활성을 50% 저해하는 농도를 내삽에 의하여 구하고, 이를 IC₅₀ value로 한다.

저해율 =

$$\frac{\text{Control의 } A_{475} - \text{시료용액이 첨가된 것의 } A_{475}}{\text{Control의 } A_{475}}$$

결과 및 고찰

피부 기저층에 있는 melanosome에서 melanin polymer 생성에 key enzyme으로 작용하고 있는 tyrosinase에 대하여 억제효과를 나타내는 고등식물을 탐색할 목적으로 본 실험을 실시하였다. 현재 천연물에서 얻어진 kojic acid, arbutin, ascobin 산의 유도체들이 tyrosinase의 활성을 억제하고, 햇볕에 의한 검버섯, 주근깨의 방지의 목적으로 의약품외품 및 기능성화장품 첨가제로서 사용되고 있다¹²⁾. 그밖에 천연물로서 tyrosinase에 활성억제 효과를 나타내는 것으로는, 신농본초경의 상품에 수제되어 있고, 항염증, 항괴양, 해독작용이 있어 광범위하게 이용되고 있는 감초의 ethyl acetate 분획으로부터 단리된 formononetin, glabren, glabridin, glabrol, 상백피로부터 분리된 oxyresveratrol이 알려져 있다.¹³⁾ 福島 등은 중국 한방 의학의 고전중 '外治秘要', 및 '本草綱目'을 선정하여 그

안에 기재되어 있는 처방에 주목하고, 사용되는 생약에 대하여 사용빈도가 높은 것으로부터 것으로부터 33종을 선정, tyrosinase활성 억제작용에 대하여 검토하여, 계피, 오매, 만형자, 산수유, 하고초에 강한활성이 있음을 보고하였다.¹⁴⁾

저자 등은 이처럼 문헌에서 이미 소개하고 있는 생약은 물론 전국 각지에서 무작위로 채집한 고등식물 130종을 methanol로 추출, 얻어진 MeOH Ex를 CH₂

Cl₂, EtOAc, H₂O 등으로 순차적으로 분획하여 390종의 시료를 확보하고 확보된 시료에 대하여 *in vitro*에서의 tyrosinase활성을 검토하여 그 결과를 Table I에 나타내었다. Table에서 보는 바와 같이 실험에 사용된 130종의 식물중 18종의 식물 추출물에서 200 µg/ml 이하의 농도에서 tyrosinase활성을 50% 억제하는 효과를 나타냈다. 그중 상백피, 감초 등은 이미 tyrosinase 활성저해물질이 분리되어 보고된 바 있는 식물

Table I-1 — Inhibitory activities of solvent partitions of some higher plants on the tyrosinase *in vitro*

No.	Plants	IC ₅₀ (µg/ml) Value*		
		C	E	W
1	산거울 <i>Carex humilis</i> , Cyperaceae	200<	10	200<
2	오수유 <i>Evodia officinalis</i> , Rutaceae	200<	-**	-
3	죽대 <i>Polygonatum lasianthum</i> var. <i>coreanum</i> , Liliaceae	200<	200<	200<
4	붉은토끼풀 <i>Trifolium pratense</i> , Leguminosae	200<	200<	200<
5	산겨릅나무 <i>Acer tegmentosum</i> , Aceraceae	200<	200<	200
6	사철쭉 <i>Artemisia capillaris</i> , Compositae	200<	200<	200<
7	칼잎용담 <i>Gentiana uchiyama</i> , Gentianaceae	20~50	20~50	-
8	청가시덩굴 <i>Smilax sieboldii</i> , Liliaceae	200<	200<	200<
9	터리풀 <i>Filipendula glaberrima</i> , Rosaceae	200<	50~100	200<
10	뽕나무 <i>Morus alba</i> , Moraceae	100	<10	200
11	왜개심아 <i>Aconogonum divaricatum</i> , Polygonaceae	200	100~200	200
12	부계꽃나무 <i>Acer ukurunduense</i> , Aceraceae	-	50~100	200<
13	흑느릅나무 <i>Ulmus davidiana</i> for <i>suberosa</i> , Ulmaceae	200<	-	-
14	영경귀 <i>Cirsium japonicum</i> , Compositae	-	200<	-
15	털계요등 <i>Paederia scandens</i> var. <i>velutina</i> , Rubiaceae	-	-	200<
16	충충이꽃 <i>Clinopodium chinense</i> var. <i>parviflorum</i> , Labiatae	200	-	-
17	사람주나무열매 <i>Sapium japonicum</i> , Euphorbiaceae	200<	100	-
18	누리장나무 <i>Clerodendron trichotomum</i> , Verbenaceae	200<	-	-
19	천궁 <i>Cnidium officinale</i> , Umbelliferae	100~200	200<	-
20	신이 <i>Magnolia kobus</i> , Magnoliaceae	-	200<	-
21	치자 <i>Gardenia jasminoides</i> , Rubiaceae	-	200<	200<
22	황기 <i>Astragalus membranaceus</i> , Leguminosae	-	200<	200<
23	백출 <i>Atractylodes japonica</i> , Compositae	-	200<	-
24	향부자 <i>Cyperus rotundus</i> , Cyperaceae	-	100<	200<
25	맥문동 <i>Liriope platyphylla</i> , Liliaceae	-	-	200<
26	현초 <i>Geranium thungergii</i> , Geraniaceae	200<	100~200	200<
27	황백 <i>Phellodendron amurense</i> , Rutaceae	200<	200<	200<
28	현호색 <i>Corydalis ternata</i> , Papaveraceae	50~100	200<	200<
29	목단피 <i>Paeonia suffruticosa</i> , Paeoniaceae	100~200	<10	200<
30	황금 <i>Scutellaria baicalensis</i> , Labiatae	200<	200<	200<
31	후박 <i>Magnolia officinalis</i> , Magnoliaceae	200<	200<	200<
32	음양곽 <i>Epimedium koreanum</i> , Berberidaceae	-	200<	200<
33	지모 <i>Anemarrhena asphodeloides</i> , Liliaceae	200<	200<	-
34	용담 <i>Gentiana scabra</i> , Gentianaceae	200<	200<	-
35	천마 <i>Gastrodia elata</i> , Orchidaceae	-	-	200<
36	산사자 <i>Crataegus pinnatifida</i> , Rosaceae	-	200<	-
37	고삼 <i>Sophora flavescens</i> , Leguminosae	200<	20~50	200

Table I-1 — Continue

No.	Plants	IC ₅₀ (μg/ml) Value*		
		C	E	W
38	목통 <i>Akebia quinata</i> , Lardizabalaceae	—	—	200<
39	산수유 <i>Cornus officinalis</i> , Cornaceae	200<	200<	200<
40	진피 <i>Citrus unshiu</i> , Rutaceae	200<	200<	200<
41	승마 <i>Cimicifuga heracleifolia</i> , Ranunculaceae	200<	200<	200<
42	갈근 <i>Pueraria thunbergiana</i> , Leguminosae	200<	200<	200<
43	연교 <i>Forsythia viridissima</i> , Oleaceae	200<	—	—
44	오미자 <i>Schizandra chinensis</i> , Schizandraceae	—	200<	200<
45	당귀 <i>Angelica gigas</i> , Umbelliferae	—	200<	200<
46	해동피 <i>Kalopanax pictus</i> , Araliaceae	200<	200<	—
47	석창포 <i>Acorus gramineus</i> , Araceae	—	—	—
48	시호 <i>Bupleurum falcatum</i> , Umbelliferae	200<	200<	200<
49	고련피 <i>Melia azedarach</i> , Meliaceae	200<	200<	200<
50	길경 <i>Platycodon grandiflorum</i> , Campanulaceae	200<	200<	200<
51	세신 <i>Asiasarum sieboldii</i> , Aristolochiaceae	200<	200<	200<
52	백지 <i>Angelica dahurica</i> , Umbelliferae	200<	200<	200<
53	방기 <i>Sinomenium acutum</i> , Menispermaceae	200<	—	—
54	산조인 <i>Zizyphus jujuba</i> , Rhamnaceae	200<	200<	200<
55	토복령 <i>Smilax china</i> , Liliaceae	200<	200<	200<
56	천초 <i>Fagara mandshurica</i> , Rutaceae	200<	200<	200<
57	우슬 <i>Achyranthes japonica</i> , Amaranthaceae	200<	200<	—
58	구기자 <i>Lycium chinense</i> , Solanaceae	200<	200<	200<
59	천문동 <i>Asparagus cochinchinensis</i> , Liliaceae	200<	200<	200<
60	차전자 <i>Plantago asiatica</i> , Plantaginaceae	—	200<	—
61	소엽 <i>Perilla sikokiana</i> , Labiatae	—	—	—
62	산약 <i>Dioscorea japonica</i> , Dioscoreaceae	200<	—	200<
63	흑측 <i>Pharbitis nil</i> , Convolvulaceae	200<	—	—
64	익모초 <i>Leonurus sibiricus</i> , Labiatae	200<	200<	200<
65	하고초 <i>Prunella vulgaris</i> , Labiatae	200<	200<	200<
66	금은화 <i>Lonicera japonica</i> , Caprifoliaceae	200<	—	200<
67	감초 <i>Glycyrrhiza glabra</i> , Leguminosae	20~50	20~50	200<
68	백강잠 <i>Bombyx mori</i> , Bombycidae	200<	50~100	200<
69	망초 <i>Erigeron canadensis</i> , Compositae	200<	200<	200<
70	적작약 <i>Paeonia albiflora</i> , Ranunculaceae	200	50	200<
71	육계 <i>Cinnamomum cassia</i> , Lauraceae	200<	200<	200<
72	돼지풀 <i>Ambrosia artemisiifolia</i> , Compositae	200<	200<	200<
73	다래 <i>Actinidia arguta</i> , Actinidiaceae	200<	200<	200<
74	팔루인 <i>Trichosanthes kirilowii</i> , Cucurbitaceae	200<	200<	—
75	인진 <i>Artemisia capillaris</i> , Compositae	—	—	200<
76	상백피 <i>Morus alba</i> , Moraceae	20~50	<10	20~50
77	오배자 <i>Rhus chinensis</i> , Anacardiaceae	200<	20~50	200<
78	백복령 <i>Poria cocos</i> , Polyporaceae	—	200<	200<
79	황련 <i>Coptis japonica</i> , Ranunculaceae	200<	200<	200<
80	지실 <i>Poncirus trifoliata</i> , Rutaceae	—	200<	200<
81	하수오 <i>Polygonum multiflorum</i> , Polygonaceae	200<	200<	200<
82	담쟁이 <i>Parthenocissus tricuspidata</i> , Vitaceae	—	200<	200<
83	홀아비꽃대 <i>Chloranthus japonicus</i> , Chloranthaceae	—	—	200<
84	쪽동백 <i>Styrax obassia</i> , Styracaceae	200<	200<	200<
85	결명자 <i>Cassia obtusifolia</i> , Leguminosae	200<	200<	200<
86	노란물봉선 <i>Impatiens noli-tangere</i> , Balsaminaceae	—	200<	200<

Table I-1 — Continue

No.	Plants	IC ₅₀ (μg/ml) Value*		
		C	E	W
87	떡충나무 <i>Sambucus williamsii</i> , Caprifoliaceae	-	200<	200<
88	샤리 <i>Lycopus lucidus</i> , Labiatae	-	200<	200<
89	생강나무 <i>Lindera obtusiloba</i> , Lauraceae	200<	200<	200<
90	지유 <i>Sanguisorba officinalis</i> , Rosaceae	200<	200	100~200
91	애기똥풀 <i>Chelidonium majus</i> , papaveraceae	-	200<	200<
92	갈매나무 <i>Rhamnus dahurica</i> , Rhamnaceae	100~200	200<	200<
93	쑥 <i>Pueraria thunbergiana</i> , Leguminosae	-	200	200<
94	개암나무 <i>Corylus heterophylla</i> var. <i>japonica</i> , Betulaceae	-(100)	-(200)	200<
95	스코폴리아 <i>Scopolia japonica</i> , Solanaceae	200<	200<	200<
96	새삼 <i>Cuscuta japonica</i> , Convolvuraceae	200<	200<	200<
97	유카리엽 <i>Eucalyptus globulus</i> , Myrtaceae	200<	200<	200<
98	으아리 <i>Clematis mandshurica</i> , Ranunculaceae	200<	200<	200<
99	붉나무 <i>Rhus javanica</i> , Anacardiaceae	200<	-(50)	200<
100	작살나무 <i>Callicarpa japonica</i> , Verbenaceae	-	20~50	-(150)
101	부자 <i>Aconitum carmichaeli</i> , Ranunculaceae	200<	200<	200<
102	쇠물푸레 <i>Fraxinus sieboldiana</i> , Oleaceae	100	50	200<
103	소태나무 <i>Picrasma quassioides</i> , Simaroubaceae	200<	200	200
104	비목나무 <i>Lindera erythrocarpa</i> , Lauraceae	200<	200<	200<
105	산딸나무 <i>Cornus kousa</i> , Cornaceae	200<	50~100	200<
106	가래나무 <i>Juglans mandshurica</i> , Juglandaceae	200<	200<	200<
107	자주개나리 <i>Medicago sativa</i> , Leguminosae	200<	200<	200<
108	망개나무 <i>Berchemia berchemiaefolia</i> , Rhamnaceae	200<	200<	200<
109	바디나물 <i>Angelica decursiva</i> , Umbelliferae	200<	200<	200<
110	노박덩굴 <i>Celastrus orbiculatus</i> , Celastraceae	-	200<	-
111	피나무 <i>Tilia amurensis</i> , Tiliaceae	200<	200<	200<
112	말채나무 <i>Cornus walteri</i> , Cornaceae	200<	200<	200<
113	조록싸리 <i>Lespedeza maximowiczii</i> , Leguminosae	200<	100~200	200<
114	등침 <i>Aristolochia manshuriensis</i> , Aristolochiaceae	-	200<	200<
115	활랑나무 <i>Lathyrus davidii</i> , Leguminosae	200<	200<	200<
116	오가피나무 <i>Acanthopanax sessiliflorum</i> , Araliaceae	200<	200<	<200
117	독활 <i>Aralia continentalis</i> , Araliaceae	200<	200<	200<
118	방풍 <i>Ledebouriella seseloides</i> , Umbelliferae	200<	200<	200<
119	강활 <i>Ostericum koreanum</i> , Umbelliferae	200<	200<	200<
120	고본 <i>Angelica tenuissima</i> , Umbelliferae	200<	200<	200<
121	만형자 <i>Vitex rotundifolia</i> , Verbenaceae	200<	200<	200<
122	갯메꽃 <i>Calystegia soldanella</i> , Convolvulaceae	200<	200<	200<
123	오매 <i>Prunus mume</i> , Rosaceae	200<	-	200
124	좀갯잎나무 <i>Boehmeria spicata</i> , Urticaceae	200<	200<	200<
125	털머위 <i>Farfugium japonicum</i> , Compositae	2100<	200<	200<
126	달맞이꽃 <i>Oenothera odorata</i> , Onagraceae	200<	200<	200<
127	매죽나무 <i>Styrax japonica</i> , Styracaceae	200<	10	200<
128	충충나무 <i>Cornus controversa</i> , Cornaceae	200<	100	200<
129	유채 <i>Brassica campestris</i> , Cruciferae	200<	200<	200<
130	사상자 <i>Torilis japonica</i> , Umbelliferae	200<	200<	200<

*IC₅₀ values indicate the concentration that inhibits the 50% of tyrosinase activity C: CH₂Cl₂ layer, E: EtOAc layer, W: water layer. **"-": no reaction

로 본 실험에서도 매우 강한 억제효과를 나타내었다. 칼
잎용담(*Gentiana uchiyama*)은 CH₂Cl₂, EtOAc 분획에

서 비교적 강한 억제효과를 나타내고 있으나 동속식물
인 용담(*G. scabra*)에서는 거의 활성을 나타내지 않고

있어 활성물질의 규명은 식물분류학적으로 흥미있으리라 사료된다. 또 개암나무, 붉나무의 경우는 오히려 tyrosinase의 활성을 증가시키고 있으며 특히 작살나무의 EtOAc 및 water 분획은 각각 tyrosinase의 활성을 증가, 억제시키는 결과를 나타내고 있어 적어도 서로 상반된 활성을 가지는 성분이 2개 이상 존재함을 알 수 있다.

앞에서 언급했듯이 피부세포내에서의 melanin polymer의 생성은 생합성 과정에서의 key enzyme인 tyrosinase의 활성에 의해 많이 좌우되기도 하지만, 또 하나는 tyrosinase의 활성과는 관계없이 melanocyte내에서 복합적인 요인에 의하여 melanin polymer가 생성되는 경우가 있으므로 melanoma cell에 대한 cytotoxicity에 의하여도 melanin polymer의 생성이 억제됨을 알 수 있다. 따라서 실제 활성물질을 분리하고자 할 때 시료식물의 선정에 있어서 이점을 고려하여야 할 것이다(Table I).

문헌

- 1) 三島豊: "色素異常症: 總論" 現代皮膚科學大系, 第15卷, 山村雄一他論, 東京, 中山書店 p. 3 (1983).
- 2) Prota, G.: Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals, *J. Invest. Dermatol.* **75**, 122 (1980)
- 3) Pavel, S., Muskiet, F. A.: Eumelanin (precursor) metabolites as markers for pigmented malignant melanoma, a preliminary report, *Cancer Detection and Prevention* **6**, 31i (1983).
- 4) 龜山孝一良 and Hearing, V. J.:メラニン産生の制御因子, *Fragrance Journal*, **1990**(6), 24 (1990).
- 5) Mishima, Y., Hatta, S., Ohyama, Y. and Inazu, M.: Induction of melanogenesis suppression: Cellular pharmacology and mode of differential action, *Pigment Cell Res.* **1**, 367 (1988).
- 6) 波多江眞吉, 三島豊: 胎盤抽出液のメラニン生成抑制作用, *フレグランスジャーナル*, **1990**(6), 105 (1990).
- 7) Ando, S., Ando, O., Suemoto, Y. and Mishima, Y.: Tyrosinase gene transcription and its control by melanogenetic inhibitor, *J. Invest Dermatol.* **100**, 150 (1993).
- 8) 片桐崇行, 横山浩治, 小幾一郎, 松上道雄, 中野博行: Esculinの melanogenesis 抑制作用, *日皮會誌* **104**, 1367 (1994).
- 9) Imokawa, G. and Mishima, Y.: Loss of melanogenic properties in tyrosinase induced by glycosilation inhibitors within malignant melanoma cells, *Cancer Res.* **42**, 1994 (1982).
- 10) S. Hamata: 總説-メラニン生成沮害物質, *皮膚* **18**, 249 (1976).
- 11) Hearing, V. J. and Ekei, T. M.: A comparison of tyrosin hydroxylation and melanin formation, *Biochem. J.* **157**, 549 (1976).
- 12) 大山康明, 三島豊: コウジ酸の機能と美白効果, *フレグランスジャーナル* **1990**(6), 53 (1990).
- 13) 池田孝夫, 提龍彦: 生薬の機能と美白効果, *フレグランスジャーナル* **1990**(6), 59 (1990).
- 14) 福島 信, 木村知史, 化粧品有効成分の開発を目的とした生薬研究, *生薬學雜誌* **43**(2), 142 (1989).