

## 射干 에탄올추출물이 피부생리활성에 미치는 영향

성병곤<sup>1)</sup> · 이성진<sup>1)</sup> · 김필주<sup>2)</sup> · 서현철<sup>2)</sup> · 김대성<sup>2)</sup> · 문연자<sup>2)</sup> · 우원홍<sup>2)</sup> · 임규상<sup>1)</sup>  
원광대학교 한의학전문대학원 <sup>1)</sup>제3 의학과 <sup>2)</sup>한약자원개발학과

### Effect of Ethanol Extract of *Belamcandae Rhizoma* on Dermal Bioactive Properties

Byung-Gon Sung · Seong-Jin Lee · Pill-Joo Kim · Hyun-Chol Seo  
Dae-Sung Kim · Yeun-Ja Mun · Won-Hong Woo · Kyu-Sang Lim

**Objective :** This experimental study was preformed to investigate the effect of ethanol extract of *Belamcandae Rhizoma* (EBR) on dermal bioactive properties related to cosmeceuticals such as radical scavenging activity and depigmentation.

**Methods :** The free radical scavenging activity of EBR was assayed in cell free systems using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Antibacterial potency was measured by the size of inhibition zone with change of volume. Cell viability was measured by MTT assay and tyrosinase activity was assessed using L-DOPA.

**Results :** EBR showed slightly radical scavenging activity and protected against UVB-induced cell cytotoxicity. Futhermore, EBR showed antibacterial activities on *S. epidermidis* and *S. aureus*. Although the proliferation of B16/F10 cells was decreased by EBR, necrosis was not revealed. EBR augmented tyrosinase activity and dendrite outgrowth in B16/F10 cells.

**Conclusions :** These results suggest that EBR has antioxidative & antibacterial activities, and stimulate melanogenesis.

---

**Key words :** *Belamcandae Rhizoma*; DPPH; antibacterial activity; tyrosinase.

## 1. 서 론

---

교신저자 : 임규상, 전북 익산시 신용동 344-2  
원광대학교 한의과대학 안이비인후과피부과학교실  
(Tel: 063-850-6916, E-mail: kslim@wku.ac.kr)

• 접수 2008/03/07 • 수정 2008/03/21 • 채택 2008/04/11

※ 본 논문은 2007학년도 원광대학교 교내연구비 지원으로 수행  
되었음.

햇볕은 파장에 따라 적외선, 가시광선, 자외선 (UV) 등으로 나눌 수 있고 이중 UVB는 진피 상 부까지 도달하여 화상이나 홍반, 멜라닌 색소침착,

DNA 손상을 일으키게 되며, 만성 노출 시 피부주름 및 피부암을 유발하는 등 피부에 지대한 영향을 미친다<sup>1,2)</sup>.

피부는 항상 산소와 접촉하고 자외선에 노출되어 있어 활성산소종에 의한 피부의 광산화적 손상 위험이 존재한다. 산소는 대사 과정 중 일부가 superoxide radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hydroxy radical(HO·), singlet oxygen(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)과 같은 활성 유해산소로 변환되는데, 이들은 지질과산화, 단백질산화, 콜라겐과 엘라스틴의 사슬절단 및 멜라닌 생성 반응의 촉진, DNA의 산화와 같은 생체 구성 성분들의 손상을 야기 시킨다. 이에 따라 피부탄력 감소, 주름살 및 기미·주근깨 등으로 특징 지워지는 피부노화를 가속화시킬 수 있다<sup>3-6)</sup>.

멜라닌은 표피 기저층에 존재하는 멜라닌세포의 멜라닌소체(melanosome)에서 합성되어 수상돌기를 통하여 표피의 각질화세포로 이동되어 피부의 색을 나타내고, 자외선이나 외부자극 물질 등으로부터 피부를 보호하는 긍정적인 기능이 있는 반면, 과도한 색소 침착은 기미와 주근깨를 형성하고 피부노화를 촉진하는 등 미용적인 면에서 부정적인 기능을 나타내기도 한다<sup>7,8)</sup>.

射干(사간, *Belamcandae Rhizoma*)은 붓꽃과(Iridaceae)의 다년생 초본인 범부채(*Belamcanda chinensis*)의 근경(根莖)을 건조한 것으로 mangiferin, irishfloreantin belamcandin, belamcandol A, B, tectoridin, iridin 등의 성분이 있어<sup>9)</sup> 약리적 효과로는 淸熱解毒, 利水作用이 있어 인후통, 수종, 하리 및 통경 등으로 주로 이비인후과, 호흡기 질환 등을 다스리는데 사용하고 있으며<sup>10,11)</sup>, 실험적 연구로 윤등<sup>12)</sup>은 혈압 상승 인자의 하나인 안지오텐진 전환효소(angiotensin converting enzyme, ACE)의 저해작용이 있음을 보고하였다.

이에 저자는 射干이 호흡기 질환을 다스리는 것으로 보아 폐기능과 연관성이 있음을 알 수 있고 한의학에서는 ‘肺主皮毛’라 하여 폐는 피부

를 주관한다고 하였으며, 이 같은 기능을 토대로 저자는 射干的 에탄올 추출물의 피부 생리 활성효능을 알아보고자 항산화효능, UVB 세포독성 억제 효과, 항균효과 및 tyrosinase 활성에 미치는 영향을 조사하여 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 2. 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 약재

실험에 사용된 射干(*Belamcandae Rhizoma*)은 신우약업사(서울)에서 구입한 국산 규격품을 정선하여 원광대학교 한의학전문대학원의 약재보관 냉동고에 보관하여 사용하였다.

#### 2) 세포주 및 세포배양

한국 세포주은행에서 분양받은 B16/F10 멜라닌 세포주는 10% fetal bovine serum(FBS)이 첨가된 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)을 사용하여 CO<sub>2</sub> incubator(37℃, 5% CO<sub>2</sub>)에서 배양하였다.

#### 3) 균주

본 실험에 사용된 균주는 여드름의 원인 균인 *Propionibacterium acnes* (KCCM41747)와 호기성 그람 양성 균주인 *Staphylococcus epidermidis* (KCTC1917), *Staphylococcus aureus* (KCTC1927)를 사용하였다.

#### 4) 시약

Dulbecco's modified Eagle medium(DMEM)와 RPMI 1640 배지는 Gibco사(USA) 제품을, fetal bovine serum(FBS)은 Hyclones사(UK) 제품을, dimethylsulfoxide (DMSO),  $\alpha$ -melanocyte stimulating

hormone( $\alpha$ -MSH), bovine serum albumin(BSA), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA), phenylmethyl sulfonyl fluoride(PMSF), triton X-100, catechol, mushroom tyrosinase, 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA)은 Sigma사(USA) 제품을, protein assay 시약은 Bio-rad사(USA) 제품을 사용하였고, methanol(MeOH), ethyl ether, acetic acid, 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 시약은 Sigma사(USA) 제품을 사용하였다.

## 5) 사용기기

Centrifuge HA-12, Clean bench, CO<sub>2</sub> incubator, Micro 17TR centrifuge는 한일기기사(Korea) 제품을, ELISA reader는 Bio-TEK사(Japan) 제품을, Electrophoresis power supply는 Amersham사(USA) 제품을, ChemidocXRS image analysis는 Bio-rad사(USA) 제품을 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 시료의 추출

射干 200 g에 100% ethanol 2000 ml를 가하고 밀봉하여 24시간 동안 실온에서 진탕하고 1시간 초음파분쇄기로 처리하였으며, 동일한 과정을 3회 반복하였다. 이를 거르로 여과하여 냉동건조기(freeze dryer)를 이용하여 감압 농축 후 9.91g의 試料(수득률: 4.96%)를 얻어 냉장 보관하였다. 試料는 분주하여 DMSO에 녹여 사용하였다.

### 2) 항산화 효능측정

射干 에탄올 추출물로부터 유용활성물질을 탐색하기 위해 항산화 효능을 검정하였으며, 자유 라디칼인 DPPH를 사용한 항산화활성 측정방법을 이용하였다<sup>13)</sup>. 실험관에 메탄올을 넣고 시료 화합물

을 농도별로 첨가한 다음 상기 DPPH (0.3 mM) 용액을 500  $\mu$ l 첨가하여 실온에서 30분간 반응시키고 517 nm에서 측정하였다.

### 3) 항균력 측정(Paper disc diffusion assay)

항균활성 평가는 paper disc diffusion 법을 이용하였다. *P. acnes* 균주는 GAM 액체배지에, *S. epidermidis*와 *S. aureus*는 Nutrient 액체배지에 각 균주의 single colony를 넣고 12시간 동안 배양 후 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. *P. acnes*는 0.5 ( $1 \times 10^9$  cfu/ml)로, *S. epidermidis*는 0.3 ( $2 \times 10^8$  cfu/ml)로, 그리고 *S. aureus*는 0.3 ( $8 \times 10^8$  cfu/ml)로 조절하여 평판배지에 균일하게 도말해 주었다. 射干 에탄올 추출물은 400 mg/ml 농도로 10% DMSO에 용해하여, 0.22  $\mu$ m filter로 여과하여 제공한 후 80% 에탄올로 희석하여 항균활성을 측정하였다. Paper disc ( $\Phi$  8 mm, Adventec, USA)에 각각의 농도별로 희석된 약제에서 40  $\mu$ l씩 분주하여 용매를 날린 후 균이 도말된 평판배지에 고착시켰다. 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 하에서 12~24시간 배양한 후 disc 주변의 clear zone 크기를 측정하여 항균활성으로 나타내었다. 대조군으로 80% 에탄올을 사용하였다.

### 4) UV 조사

세포의 UVB 조사는 광원으로 UVB lamp GI5T8E (Sankyo denki, Japan)를 이용하여 제작한 UVB 조사기를 사용하였으며 광량은 waldmann UV meter (Waldmann Lichttechnik, germany)로 측정하였다. 자외선 조사 동안 세포가 건조되지 않게 하기 위하여 phosphate buffered saline (PBS) 2ml를 세포 배양 접시에 넣은 후 UVB를 10mJ/cm<sup>2</sup>로 조사하였다.

### 5) Tyrosinase 활성 측정

세포내 tyrosinase 활성은 Matinez-Esparza 등의

방법<sup>14)</sup>으로 측정하였다. B16/F10 멜라닌세포주를 6 well 배양용기에  $5 \times 10^4$ /well씩 분주하여 24시간 동안 배양하여 세포를 부착시킨 후, 시료와  $\alpha$ -MSH(20 nM)을 각각 처리하고 3일간 배양하였다. 배양이 끝난 세포는 PBS로 세척하고 lysis buffer(5 mM EDTA, 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.0), triton X-100, 0.1 M PMSF)로 세포를 용해하였다. 4℃, 13,000 rpm에서 30분간 원심분리를 하여 얻은 상층액을 tyrosinase 활성측정 용액으로 사용하였고, protein assay 용액(Bio Red, USA)으로 595 nm에서 흡광도를 측정, 동량의 단백질 양을 계산하였다. 시료 50  $\mu$ l와 0.1 M sodium phosphate buffer 150  $\mu$ l, 0.1 % L-DOPA 50  $\mu$ l를 분주하여 혼합한 후 ELISA reader기로 37℃에서 405 nm의 파장으로 1시간동안 30분 간격으로 흡광도의 변화를 측정하였다. 활성율은 대조군의 흡광도를 기준으로 한 백분율로 환산하여 결과로 나타내었다.

$$\text{Tyrosinase 활성율 (\%)} = \frac{\text{대조물질의 흡광도}}{\text{시료가 첨가된 용액의 흡광도}} \times 100$$

### 6) DOPA 염색

B16/F10 세포를 chamber slide(8 chamber, Nunc)에 배양하고 일정시간 시료를 처리한 후 5% formalin 용액으로 고정하였다. 0.1% DOPA 용액으로 염색하고 탈수하여 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다<sup>18)</sup>.

### 7) 통계처리

실험 결과는 student's t-test를 이용하여 p-value를 구하여 유의성을 검증하였다.

## 3. 결 과

### 1. 射干 에탄올추출물의 항산화 효과

실험 결과 射干 에탄올추출물은 50, 100, 200  $\mu$ g/ml 농도에서 대조군의 97.2%, 93.3%, 60.8%로 200  $\mu$ g/ml 농도에서만 일정정도의 DPPH 라디칼 소거효과를 보였다. 이는 항산화 대조물질로 알려져 있는 butylated hydroxy toluene(BHT, SC<sub>50</sub> : 50  $\mu$ g/ml) 및 ascorbic acid(SC<sub>50</sub> : 22  $\mu$ g/ml)와 비교하여 항산화효과는 적은 것으로 나타났다(Fig. 1).

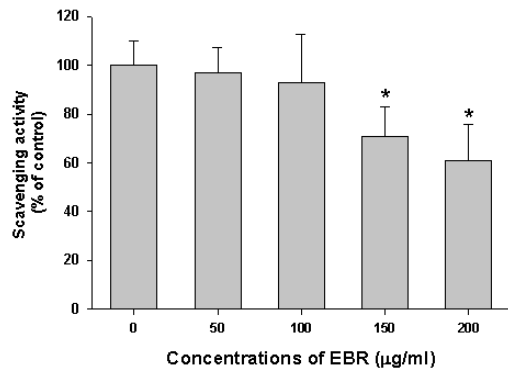


Fig. 1. Radical scavenging activity of EBR.

DPPH radical scavenging activity was measured as described in Materials and Methods. Data are means  $\pm$  S.D. of three experiments performed in triplicate. \*p < 0.05: compared with control.

### 2. 射干 에탄올추출물의 UVB 세포독성 억제효과

B16/F10 세포에 UVB 10 mJ/cm<sup>2</sup>를 조사하고 24 시간 후 관찰한 결과 B16/F10 세포의 생존율이 현저히 감소하였다. 그러나 射干 에탄올추출물 100  $\mu$ g/ml 처리군에서는 UVB에 의한 세포독성을 억제하였다(Fig. 2).

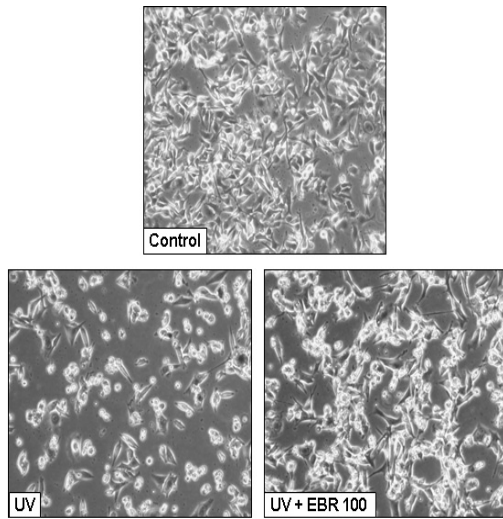


Fig. 2. UVB-protecting effect of EBR. UVB was irradiated on B16/F10 cells as the dosage of 10 mJ/cm<sup>2</sup>. After 24 hours, cells were observed by light microscopy. Control: untreated group, UV: UVB (10 mJ/cm<sup>2</sup>) irradiation, UV+EBR 100: UVB (10 mJ/cm<sup>2</sup>) irradiation and pre-treatment of EBR 100 µg/ml. (×100)

### 3. 射干 에탄올추출물의 항균효과

실험 결과, *S. aureus* 균주의 경우 5, 10 mg/ml 농도에서 각각 19 mm, 22 mm의 투명대를 형성하였으며, *S. epidermidis* 균주의 경우 5, 10 mg/ml 농도에서 각각 10 mm, 20 mm의 투명대를 형성하였다(Fig. 3 & Table 1). 그러나 *P. acnes* 균주에서는 항균활성을 나타내지 않았다(Fig. 3 & Table 1).

Table 1. The size of Inhibition Zone by EBR.

Concentrations of EBR	0 mg 1 mg 5 mg 10 mg			
	Diameter of inhibited zone (mm)			
<i>S. Aureus</i>	0	0	19	22
<i>S. Epidermidis</i>	0	0	10	20
<i>P. Acnes</i>	0	0	0	0

### 4. 세포독성

실험 결과 射干 에탄올추출물 25, 50, 100 µg/ml 농도에서 B16/F10세포의 세포생존율은 각각 대조군의 100.5%, 87.1%, 72.6%로 나타났다(Fig. 4). 따라서 射干 에탄올추출물은 B16/F10 세포에 대해서 100 µg/ml 농도에서 세포 생존률이 약간 감소하였다.

### 5. Tyrosinase 활성도

射干 에탄올추출물이 B16/F10 세포의 tyrosinase 효소 활성에 미치는 영향을 조사한 결과, 射干 에탄올추출물 50 µg/ml과 100 µg/ml 농도에서 각각 대조군의 182 ± 34%, 170 ± 37%로 나타났다(Fig. 5). 따라서 射干 에탄올추출물은 B16/F10 세포의 tyrosinase 활성을 증가시켰음을 알 수 있었다.

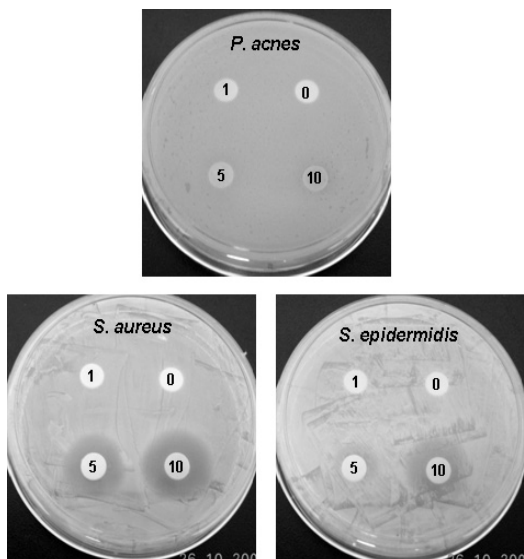


Fig. 3. Antibacterial effects of EBR. Antibacterial effects of EBR on *P. acnes*, *S. aureus* and *S. epidermidis* were measured as described in Materials and Methods.

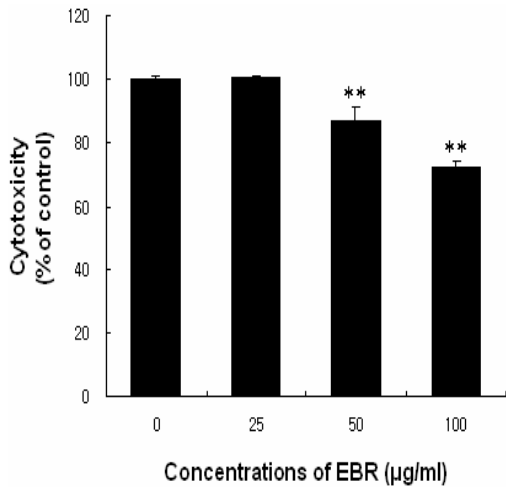


Fig. 4. Effect of EBR on cell viability.

B16/F10 cells were serum- starved for 24 hours and EBR was added to serum-free medium at 25 ~ 100 µg/ml for 24 hours. Cell viabilities were measured by MTT assay as described in Materials and Methods. Data are means ± S.D. of three experiments performed in triplicate. \*\*p<0.01: compared to control.

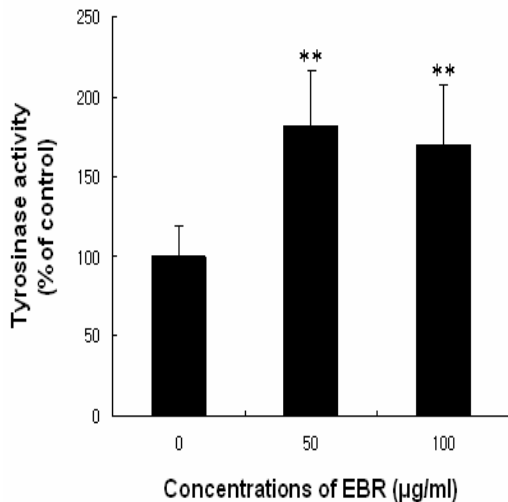


Fig. 5. Effect of EBR on tyrosinase activity.

The effect on tyrosinase activity was tested with various doses of EBR in B16/F10 cells for 3 days. Data are expressed as percent (%) of control and each column represents the mean ± S.D. of three experiments performed in triplicate. \*\*p<0.01: compared to control.

## 6. DOPA 염색

본 연구에서 DOPA 염색을 통하여 射干 에탄올 추출물의 멜라닌합성 억제 효과를 형태적으로 관찰하기 위하여 射干 에탄올추출물을 100 µg/ml 농도로 처리하고 3일간 배양한 후 대조군과 비교하였다. Tyrosinase의 DOPA oxidase 활성을 관찰한 결과 射干 처리군은 대조군에 비해 tyrosinase 활성이 증가하였다. 또한 射干 처리군은 대조군에 비하여 수지상 가지돌기가 증가하였다(Fig. 6).

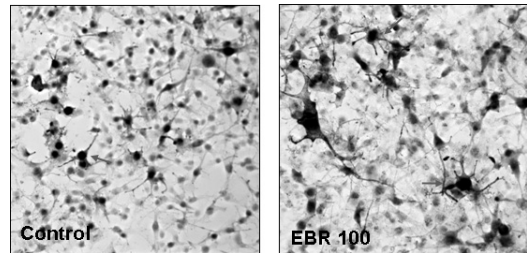


Fig. 6. Observation of tyrosinase activity by DOPA stain after treatment with EBR.

Cells were incubated with EBR at 100 µg/ml. After 3 days, cells were stained with DOPA as described in Materials & Methods. Control: untreated group, EBR 100: EBR (100 µg/ml) treated group. Arrows: dendritic process. (×200)

## IV. 고 찰

활성산소종은 노화, 특히 피부노화의 원인물질로 정상적인 대사과정에도 생성되며, 질병이나 스트레스, 공해, 흡연 등의 상태에서 과잉으로 생성된다. 피부세포 및 조직 손상을 일으키는 활성산소종은 반응성이 큰 singlet oxygen(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), hydroxy radical (HO·)이며, 이들은 항산화효소와 비효소적 항산화제들로 구성된 산화제/항산화제 균형을 파괴하고, 피부탄력 감소, 주름살 및 기미·주근깨 등의 피부노화를 일으킨다<sup>3-6)</sup>.

따라서 피부노화를 지연시키고 억제하기 위해서

는 생체 내 뿐만 아니라 피부에서의 과잉의 활성 산소종을 억제하고 또한 활성산소를 효율적으로 제거할 수 있는 항산화 방어시스템이 필요하다. 본 실험에서 射干 에탄올추출물의 DPPH 라디칼 소거 효과를 측정한 결과 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 대조군과 비교하여 60.8%로 라디칼을 소거하였다(Fig. 1).

피부는 자외선에 노출되어 있고 활성산소종이 생성되는 광화학적 반응들이 계속해서 일어나고 있으므로, UVB에 대한 射干 에탄올추출물의 효과를 조사하였다. 본 실험 결과, UVB 조사에 의해 B16/F10 세포의 생존률은 현저히 감소되었고, 射干 에탄올추출물 전처리군에서는 UVB군에 비하여 회복효과가 뚜렷하였다(Fig. 2). 따라서 射干 에탄올추출물의 UVB-방어효과는 비교적 작지만 일부 射干추출물의 항산화작용에 의한 것으로 생각된다.

피지선의 만성 염증성 질환의 하나인 여드름은 심상성(尋常性) 좌창(痤瘡)으로 대개 사춘기 전후에 발생하기 시작하여 성인기까지 지속되며 모피지선 단위가 가장 밀집되어 있는 얼굴, 가슴 등에 호발한다. 정확한 원인은 알려져 있지 않으나 남성호르몬에 의한 피지 분비항진, 모낭개구부의 각화와 피지의 배출지연, 세균성 리파아제에 의한 피지성분 중의 중성지방의 가수 분해로 생긴 유리지방산의 모낭 벽 자극, 피부 상재균 특히, *P. acnes*균에서 분비되는 화학성 물질에 의한 모낭주위 염증 등의 소인을 들 수 있다<sup>15-17</sup>).

따라서 피부 상재균인 *P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis* 균주에 대한 射干 에탄올추출물의 항균활성을 조사한 결과, *S. aureus* 균주와 *S. epidermidis* 균주의 경우 항균효과를 나타냈으나, *P. acnes* 균주에서는 항균활성을 나타내지 않았다(Fig. 3 & Table 1).

피부는 자외선으로부터 인체를 보호하기 위하여 멜라닌세포 내에서 멜라닌이 합성되는데, 멜라닌은 각질형성세포로 이동되며, 일정 시간이 지나면 각

질층의 탈락과 함께 밖으로 배출된다. 따라서 피부의 색소침착을 일으키는 대표적인 요인은 일광이며, 피부를 구성하고 있는 각질형성세포, 멜라닌세포, 섬유아세포는 물론 염증세포의 출현, prostaglandin, 여러 가지 cytokine,  $\alpha$ -MSH의 변화 등이 서로 연관되어 종합적으로 색소침착이 조절 된다<sup>18,19</sup>).

최근 기미, 주근깨 등의 색소 침착을 예방하거나 제거하려는 목적으로 tyrosinase 활성 억제에 효과가 있는 미백 치료제를 활발히 연구하고 있으며 그 중에서도 환경 친화적이고 피부 안정성이 우수한 한방화장품의 개발이 활발해지고 있다. 현재까지 tyrosinase 억제제로 알려진 물질로는 4-hydroxyanisole, 5-hydroxyindole 및 hydroquinone 와 kojic acid, arbutin, oxyresveratrol 등이 있으며, 그 외에도 stilbene계 화합물인  $\alpha$ -viniferin, isoflavonoid류인 ferulic acid가 알려져 있다<sup>20,21</sup>. 이밖에도 감초<sup>22,23</sup>, 더덕<sup>24</sup>, 천화분<sup>25</sup>, 백출<sup>26</sup>, 사삼<sup>27</sup> 등의 식물추출물이 멜라닌 합성억제 효능이 있다고 보고되었다. 본 실험에서 멜라닌 합성에 미치는 射干 에탄올 추출물의 효과를 조사한 결과 100  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 B16/F10세포의 tyrosinase 활성을 증가시켰으며, 수치상 가지돌기 또한 증가시켰다(Fig. 5, 6).

이상의 결과 射干 에탄올추출물은 항산화 효과와 *S. aureus*, *S. epidermidis* 균주에 대해 항균활성이 있는 것으로 나타났으며, UVB에 의한 세포 독성을 억제하는 결과를 보였으며 멜라닌세포에서는 tyrosinase 활성을 증가시켰는바 인체를 보호하기 위한 멜라닌 합성의 반응인지, 아니면 미백효과를 억제하는 것인지에 대한 연구는 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

清熱解毒, 利水作用으로 폐, 호흡기질환에 사용

된 射干 에탄올추출물을 肺主皮毛의 한의학적 이론에 근거하여 피부 생리 활성효능을 조사하고자 항산화효능, 항균효과 및 멜라닌 합성에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 射干 에탄올추출물은 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 60.8%의 DPPH 라디칼 소거 효과를 보였다.
2. 射干 에탄올추출물은 UVB에 의한 세포독성에 대해 세포생존률 회복효과를 보였다.
3. 射干 에탄올추출물은 *S. aureus*와 *S. epidermidis* 균주에서 항균효과가 있었으나, *P. acnes* 균주에서는 항균효과가 없었다.
4. 射干 에탄올추출물 100  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 B16/F10 세포의 생존률은 72.6%로 나타났다.
5. 射干 에탄올추출물은 100  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 B16/F10세포의 tyrosinase 활성을  $170 \pm 37\%$ 로 촉진하였다.

이상의 결과 射干 에탄올추출물은 항산화 효과와 *S. aureus*, *S. epidermidis* 균주에 대해 항균활성이 있으며, 멜라닌세포에서는 멜라닌 합성을 촉진하였다.

### 참고문헌

1. Nickoloff BJ, Qin JZ, Chaturvedi V, Bacon P, Panella J, Denning MF. Life and death signaling pathways contributing to skin cancer. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2002;7(1):27-35.
2. Romero-Graillet C, Aberdam E, Biagoli N, Massabni W, Ortonne JP, Ballotti R. Ultraviolet B radiation acts through the nitric oxide and cGMP signal transduction pathway to stimulate melanogenesis in human melanocytes. *J Biological Chem*. 1996;271:28052-6.
3. Adelman D, Saul RL, Ames BN. Oxidative damage to DNA: relation to species metabolic rate and life span. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988;85:2706-8.
4. Bissett DL, Chatterjee R, Hannon DP. Chronic ultraviolet radiation-induced increase in skin iron and the photoprotective effect of topically applied iron chelators. *Photochem Photobio*. 1991;54:215-23.
5. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freedman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation; The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys*. 1991;288:481-7.
6. Janssen YM, Van Houten B, Borm PJ, Mossman BT. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab Invest*. 1993;69:261-74.
7. Hara M, Yaar M, Byers HR, Goukassian D, Fine RE, Gonsalves J, Gilchrist BA. Kinesin participates in melanosomal movement along melanocyte dendrites. *J Invest Dermatol*. 2000;114:438-43.
8. Ortonne JP. Photoprotective properties of skin melanin. *Br J Dermatol*. 2002;146(61):7-10.
9. Chakraborty AK, Funasaka Y, Slominski A, Ermak G, Hwang J, Pawelek JM, Ichihashi M. Production and release of pro-opiomelanocortin (POMC) derived peptides by human melanocytes and keratinocytes in culture: regulation by ultraviolet B. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1313:130-8.
10. 김창민, 신민교, 안영균, 이경호외. 중약대사



- 진:10권. 서울:정담. 1997:4871-2.
11. 신민교. 임상본초학. 서울:영림사. 1986:332.
  12. 申佶求. 申氏本草學. 서울:수문사. 1987:708-9.
  13. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199-200.
  14. Martinez - Esparza M, Jimenez-Cervantes C, Solano F, Lozano JA., Garcia - Borron JC. Mechanism of melanogenesis inhibition by tumor necrosis factor - alpha in B16/F10 mouse melanoma cells. *Eur J Biochem*. 1998;255:139-146.
  15. Burton JL, Shuster S. The relationship between seborrhea and acne vulgaris. *Br J Dermatol*. 1971;84:600-2.
  16. 李惟信. 임상피부과학. 서울:여문각. 1987:217-24.
  17. 안성구, 이승한, 박윤기. 흔히 보는 피부질환. 서울:고려의학. 1993:59-71.
  18. Ranson M, Psen S, Mason RS. Human melanocytes as a target tissue for hormones : in vitro studies with 1  $\alpha$ -25 dihydroxyvitamine D<sub>3</sub>,  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone, and beta estradiol. *J Invest Dermatol*. 1988;91:593-8.
  19. Prota G. Recent advance in the chemistry of melanogenesis in mammals. *J Invest Dermatol*. 1980;75:122-7.
  20. Dawley RM, Flurkey WH. 4-hexylresocinol, a potent inhibitor of mushroom tyrosinase. *J Food Sci*. 1993;58:609-10.
  21. Maeda K, Fukuda M. In vivo effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *J Soc Cosmet Chem*. 1991;42:361-8.
  22. 이주상, 김정아, 조세훈, 손애량, 장태수, 소명숙, 정시련, 이승호. 감초의 tyrosinase 활성 억제 성분. *Kor J Pharmacogn*. 2003;34(1):33-9.
  23. 문연자, 김진, 임난영, 이승연, 광섭, 황충연, 우원홍. 감초 물추출물의 멜라닌 형성 억제효과. *동의생리병리학회지*. 2002;16(6):1230-5.
  24. 이승연, 김진만, 오현철, 임숙정, 황충연, 문연자, 우원홍. 더덕추출물이 멜라닌생성에 미치는 영향. *대한한의학 방제학회지*. 200;10(2):199-211.
  25. 문연자, 이성원, 임숙정, 송채석, 이관순, 임규상, 우원홍. 천화분 수추출물이 B16 흑색종 세포의 멜라닌 생성 억제 효과. *한국전통의학지*. 2000;10(2):149-59.
  26. 천현자, 최은영, 윤성찬, 남항우, 백승화, 우원홍. 백출의 에탄올 추출물에 의한 melanin 생성 억제 효과. *약학회지*. 2001;45(3):269-75.
  27. 임난영, 권강주, 김윤석, 백순기, 임주락, 문연자, 우원홍. 사삼메탄올 추출물의 멜라닌 생성 억제 효과. *동의생리병리학회지*. 2004;18(3):747-53.