

HPLC를 이용한 노루오줌 추출물의 Avicularin 및 Quercitrin 분석법 개발

권진관* · 정연우* · 서찬곤* · 홍성수* · 신현탁** · 정수영** · 최정준*** · 김진규*†

*(재)경기도경제과학진흥원

**국립수목원

***대전대학교 한의예학과

(2019년 10월 7일 접수, 2019년 11월 29일 수정, 2019년 12월 3일 채택)

Analytical Method Development of Avicularin and Quercitrin in *Astilbe chinensis* Extract Using HPLC

Jin Gwan Kwon*, Yeon Woo Jung*, Changon Seo*, Seong Su Hong*, Hyun Tak Shin**,
Su Young Jung**, Jeong June Choi***, and Jin Kyu Kim*†

*Gyeonggido Business and Science Accelerator, Gyeonggi-do, Suwon, Yeongtong-gu, Gwanggyo-ro 147, 16229, Korea

**DMZ Botanic Garden, Korea National Arboretum

***College of Korean Medicine, Daejeon University

(Received October 7, 2019; Revised November 29, 2019; Accepted December 3, 2019)

요약: 본 연구는 노루오줌(*Astilbe chinensis*) 추출물을 기능성 화장품소재로 개발하기 위해 avicularin, quercitrin을 지표성분으로 선정하고, 품질관리를 위해 high performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하여 분석법을 개발하였다. 분석용 칼럼은 Capcell Pak C₁₈ MGII을, 이동상은 0.05% (v/v) trifluoroacetic acid (TFA)와 아세토니트릴을 사용하여 컬럼 온도는 30°C 에서 유속 1.0 mL/min 로 검출파장은 254 nm에서 검출하였다. International conference on harmonization (ICH) 가이드라인(version 4, 2005)을 근거로 하여 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 검출한계 및 정량한계를 분석하여 분석방법을 검증하였다. 분석결과, 검출한계 및 정량한계는 avicularin 0.094 및 0.285 mg/mL, quercitrin 0.031 및 0.095 mg/mL로 나타났으며, 검량곡선은 상관계수 값이 avicularin 0.99990, quercitrin 0.99994로 양호한 직선성을 보였고 정밀성 분석결과도 avicularin 0.59%, quercitrin 0.63% 이하로 확인되었다. 또한, 회수율은 avicularin 100.97 ~ 101.77%, quercitrin 100.18 ~ 100.32% 범위로 정확성이 있음을 알 수 있다. 따라서, 본 분석법은 노루오줌 추출물 지표성분의 분석법으로 적합한 시험법임이 검증되었다.

Abstract: This study attempted to establish a high performance liquid chromatography (HPLC) analysis method for the determination of avicularin, quercitrin as a part of the quality control for the development of functional cosmetic materials from *Astilbe chinensis* extract. HPLC was performed on a Capcell Pak C₁₈ MGII column with a gradient elution of 0.05% (v/v) trifluoroacetic acid (TFA) and acetonitrile at a flow rate of 1.0 mL/min at 30 °C. The analyte was detected at 254 nm. The HPLC method was performed in accordance with the international conference on harmonization (ICH) guideline (version 4, 2005) of analytical procedures with respect to specificity, precision, accuracy, and linearity. The limits of detection and quantitation of avicularin and quercitrin were 0.094 and 0.285 mg/mL, 0.031 and 0.095 mg/mL respectively. Calibration curves showed good linearity $r^2 > 0.99990$ for avicularin and $r^2 > 0.99994$ for quercitrin. Precision of analysis was satisfied with less than 0.59% for avicularin and 0.63% for quercitrin. Recoveries

† 주 저자 (e-mail: jinkyu90@gsba.or.kr)
call: 031) 888-6130

of quantified compounds ranged from 100.97 to 101.77% for avicularin and 100.18 to 100.32% for quercitrin. These result indicated that the established HPLC method is very useful for the determination of marker compounds in *A. chinensis* extracts.

Keywords: *Astilbe chinensis*, avicularin, functional cosmetic, HPLC, quercitrin, validation

1. 서 론

최근 고령화 사회로 접어들면서 식의약품, 기능성화장품 및 건강기능식품 등 health care 관련 분야의 관심이 급속도로 증가하고 있다. 특히 천연 바이오소재를 이용한 기능성 화장품이 각광 받고 있으며 기능성의 범위가 미백, 주름개선, 자외선 차단 등에서 염모, 탈모 및 여드름 완화 및 아토피성 피부의 보습 등으로 세분화되었고 합성 화장품 소재에 대한 안전성 규제 강화, 동물실험 금지 등 연구 환경의 변화로 인해 생물학적 활성을 나타내는 천연물 기반 소재에 대한 연구 사례가 증가하고 있다[1].

이와 같은 천연식물 소재를 이용한 연구는 지질학적 차이와 생육환경의 특성에 따라 구성성분 및 성분 함량의 차이가 나타난다. 따라서 양질의 제품을 생산하기 위해 원료 단계에서부터 품질관리가 중요시되고 있으며, 지표성분 설정 및 분석법 확립을 통한 원료의 기능성과 안전성을 과학적으로 증명하기 위한 분석법 유효성 검증 (method validation)이 필수적이다[2-4].

노루오줌[*Astilbe chinensis* var. *dauidii* Fr.]은 범의귀과 (Saxifragaceae)의 다년생 초본이며 국내 전역에 분포하고 산지, 냇가 및 습지에 자생하며 뿌리는 적승마(赤升麻), 전초는 낙신부(落新婦)라고 하여 청열(淸熱), 지해(止咳), 해열(解熱), 해독(解毒) 및 거풍(祛風) 등에 사용되었다[5,6].

노루오줌으로부터 분리된 성분으로는 flavonoid[7], triterpenoids [8-10], isocoumarin[5] 등이 있으며, 이러한 화합물과 노루오줌 추출물에 대한 항산화 활성[5,6]이 다수 보고되었다.

항산화 효능은 주름 개선, 미백, 보습뿐 아니라 항염, 항균 등 전반적인 피부 관련 기능성에 관여하고 있으며[11-13], 특히, 노루오줌에 함유되어있는 성분인 avicularin과 quercitrin과 같은 polyphenol계열 화합물들은 항산화[14,15], 미백[16, 17], 피부 노화 예방[18] 등의 효능이 알려져 있어 향후, 이러한 성분이 함유되어 있는 노루오줌은 화장품 원료로의 개발 가능성이 높을 것으로 사료된다.

따라서, 본 연구에서는 노루오줌 추출물을 기능성 화장품 원료로 개발하기 위해 노루오줌 추출물의 주요 함유성분인 avicularin과 quercitrin을 지표성분으로 선정하고, 이 성분을 이용한 분석법을 확립하기 위하여 분석법 validation을 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 실험에 사용한 노루오줌은 국립 DMZ 자생식물원에서 강원도 양구지역에서 채취하여 음건한 시료를 제공받았다. 건조된 시료를 분쇄하여 50% 에탄올(Samchun Pure Chemical, Korea)을 이용하여 상온에서 24 h 동안 침지하여 2회 추출하였다. 추출물은 여과 및 감압 농축한 후 동결 건조하여 분말(수율: 5.8%)로 제조한 것을 사용하였다. 추출물은 50% 메탄올(Burdick & Jackson, Korea)에 녹여 0.45 μ m membrane filter로 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였다.

2.2. 표준용액 조제

HPLC 분석에 사용한 표준품 avicularin (99.44%) 및 quercitrin (99.39%)은 Chengdu Biopurify Phytochemicals (China)에서 구입하여 사용하였다(Figure 1). 표준용액은 avicularin 및 quercitrin 5.0 mg을 50% 메탄올에 녹여 50 mL의 표준원액을 조제하였다. 이를 50% 메탄올에 희석한 표준용액을 이용하여 avicularin 및 quercitrin 함량을 구하였다.

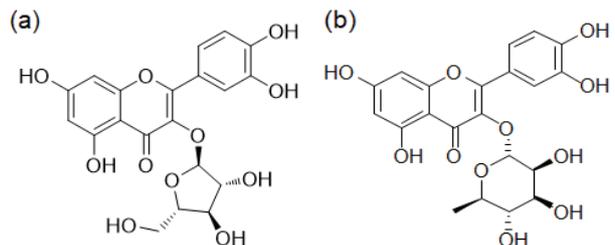


Figure 1. Chemical structure of (a) avicularin and (b) quercitrin.

2.3. HPLC 분석

HPLC 1100 (Agilent Technologies, USA) 시스템을 사용하여 측정하였다. 분석에 사용된 칼럼은 Capcell Pak C₁₈ MGII (4.6 × 250 mm, 5 μm, Shiseido, Japan)을 사용하여 Table 1과 같은 조건으로 avicularin 및 quercitrin 성분이 분리되도록 흘려주었으며 검출파장은 254 nm에서 검출하였다.

Table 1. HPLC Conditions for the Quantitative Analysis of Avicularin and Quercitrin

Items	Conditions	
Instrument	HPLC 1100 series (Agilent Technologies) A: Water (0.05% TFA) B: Acetonitrile	
	Time (min) % A % B	
Mobile phase	0 82 18	
	Gradient	45 82 18
		46 0 100
		60 0 100
	post time: 10 min	
Column	Capcell Pak C ₁₈ MGII (4.6 × 250 mm, 5 μm)	
Column temperature	30 °C	
Flow rate	1.0 mL/min	
Injection volume	10 μL	
Detection	UV 254 nm	

2.4. 분석법 검증

기능성 화장품 원료로 등록하기 위한 지표성분으로서 ICH 가이드라인을 근거로 하여 특이성(specificity), 직선성(linearity), 정밀성(precision), 정확성(accuracy), 검출한계(limit of detection, LOD, S/N = 3.3) 및 정량한계(limit of quantitation, LOQ, S/N = 10)를 분석하여 분석방법을 검증하였다.

2.4.1. 특이성

불순물, 분해물, 배합성분 등의 혼합 상태에서 분석대상물질을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력을 말하는 것으로 확립된 분석법을 통하여 분리된 각각의 피크가 추출물 내의 다른 화합물과 분리가 되었는지 피크를 검토하여 확인하였으며 photo diode array (PDA) 스

펙트럼을 측정하여 동일한 스펙트럼을 나타내는 지도 확인하였다.

2.4.2. 직선성

분석대상물질의 농도에 대해 직선적인 측정값을 얻을 수 있는 능력을 말하는 것으로 노루오줌 추출물을 1.28, 2.24, 3.2, 4.16, 5.12 mg/mL의 농도로 각각 조제하여 3회 반복 측정하였고 또한 표준품로 직선성을 확인하기 위해 avicularin을 4, 7, 10, 13, 16 μg/mL의 농도로 그리고 quercitrin은 8, 14, 20, 26, 32 μg/mL의 농도로 측정하였으며 피크면적과 시료 농도를 변수로 하여 검량선을 작성하고 작성한 검량선의 상관계수(R²)값을 이용하여 직선성을 확인하였다.

2.4.3. 정밀성

균일한 검체로부터 여러 번 채취하여 얻은 검체를 정해진 조건에 따라 측정하였을 때 각각의 측정값들 사이의 근접성(분산정도)을 말하는 것으로 반복성(repeatability)은 동일시험실내에서 동일한 시험자가 동일한 장치와 기구 등 동일 조작 조건하에 균일한 검체로부터 얻은 복수의 검체를 짧은 시간차로 반복 분석하여 얻은 측정값들 사이의 근접성을 보기위하여 6회 주입하여 면적과 머무름 시간의 재현성을 확인하였다. 실험실내 정밀성(intermediate precision)은 균일한 검체로부터 여러 번 채취하여 얻은 시료를 동일 실험실내에서 다른 실험일자를 이용하여 얻은 측정값들 사이의 근접성으로 상대표준편차(RSD)로 판단하였다. 일내분석(intra-day)는 1일 3구간 진행하였고 일간분석(inter-day)는 1일 1구간으로 3일간으로 나누어 진행하여 변이성을 측정하였다.

2.4.4. 정확성

시료를 3가지 농도(1.6, 3.2, 4.8 mg/mL)로 조제하고 동일한 분석조건으로 6회 반복 주입하여 얻은 결과를 회수율(recovery)로 나타내어 정확성을 확인하였다.

2.4.5. 검출한계 및 정량한계

시료의 직선성 시험용액 3개의 그룹에 대한 검량선을 작성하여 각각의 검량선의 기울기와 y 절편을 구하였다. 검량선에서 기울기의 평균값과 y 절편에 대한 표준편차를 구하여 아래의 식으로 검출한계 및 정량한계를 계산하였다.

- 정량한계 (LOQ) = $10 \times y$ 질편의 표준편차/검량선 기울기의 평균값
- 검출한계 (LOD) = $3.3 \times y$ 질편의 표준편차/검량선 기울기의 평균값

3. 결과 및 고찰

3.1. 특이성 검증

불순물, 분해물, 배합성분 등의 공존하는 상태에서 다른 성분의 영향을 받지 않고 분석대상물질을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력으로 표준용액과 노루오줌 추출물의 HPLC 크로마토그램을 비교하여 피크가 분리됨을 확인한 결과, 다른 물질의 간섭 없이 분리되었으며 표준용액의 피크 유지시간(retention time, RT)과 추출물의 피크 RT가 일치하였다. 또한 blank에서는 표준용액과 겹치는 피크가 없었으며 노루오줌 추출물에 표준용액을 스파이킹하

여 시험한 결과 회수율은 avicularin 100.06% 및 quercitrin 100.08%로서 양호한 결과를 얻었다(Figure 2). 또한 표준용액과 노루오줌 추출물의 PDA 스펙트럼 측정에서도 동일한 스펙트럼을 확인하였다(Figure 3). 위의 결과를 종합했을 때 본 분석방법은 특이성이 있음을 확인 할 수 있다.

3.2. 직선성 확인

실험방법이 일정 범위에 있는 검체 중 분석대상물질의 양(또는 농도)에 대하여 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 능력으로 크로마토그램에 대한 면적과 노루오줌 추출물의 농도를 변수로 하여 검량선을 작성하고 작성한 검량선의 상관관계수(R^2)값을 이용하여 직선성을 확인하였다. 노루오줌 추출물을 1.28, 2.24, 3.2, 4.16, 5.12 mg/mL의 농도로 각각 조제하여 HPLC로 분석한 값으로 검량선을 작성하였다(Figure 4). 또한 표준품 avicularin을 4, 7, 10, 13, 16 μ g/mL의 농도로 그리고 quercitrin은 8, 14, 20, 26, 32 μ g/mL

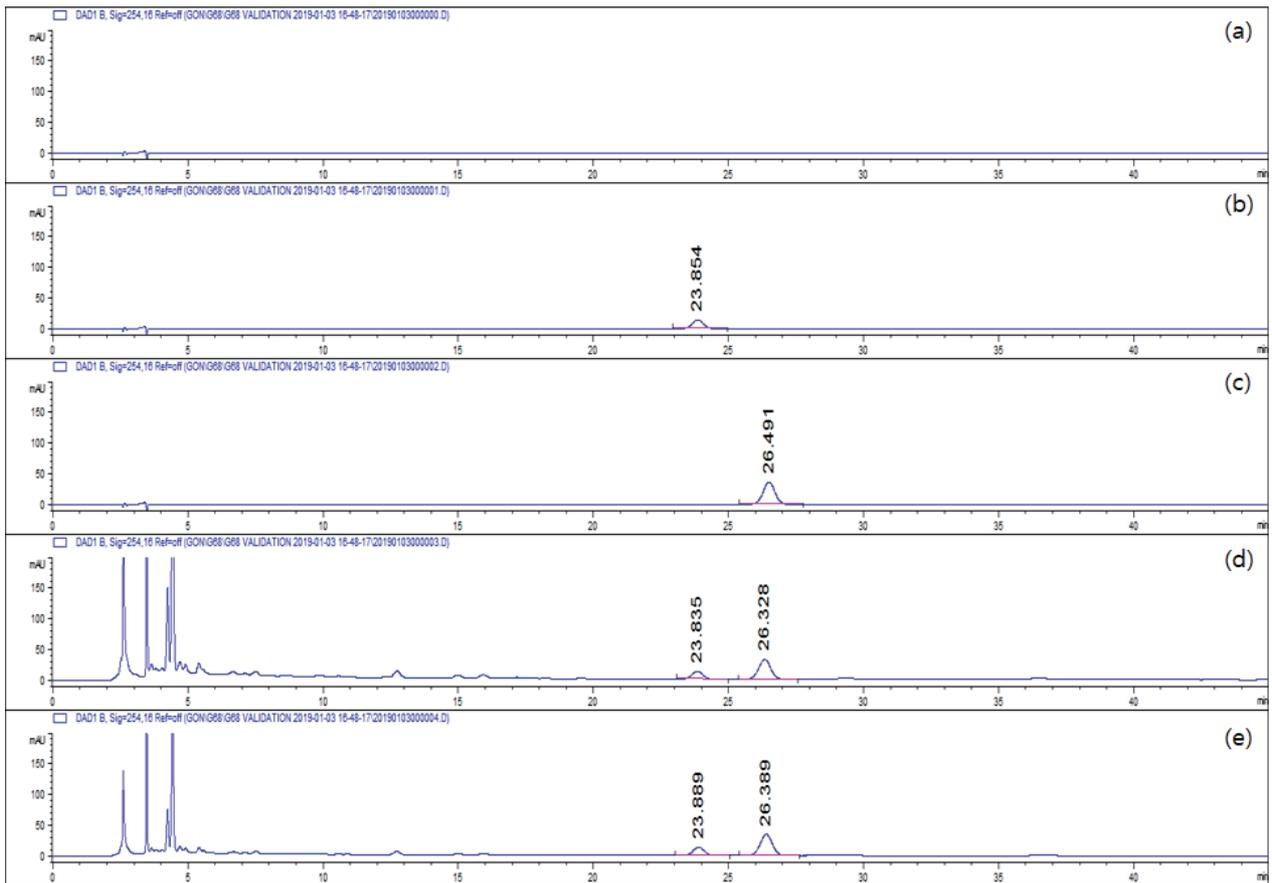


Figure 2. HPLC chromatograms of avicularin and quercitrin. (a) blank (50% MeOH), (b) standard solution of avicularin, (c) standard solution of quercitrin, (d) *A. chinensis* extract, and (e) recovery test.

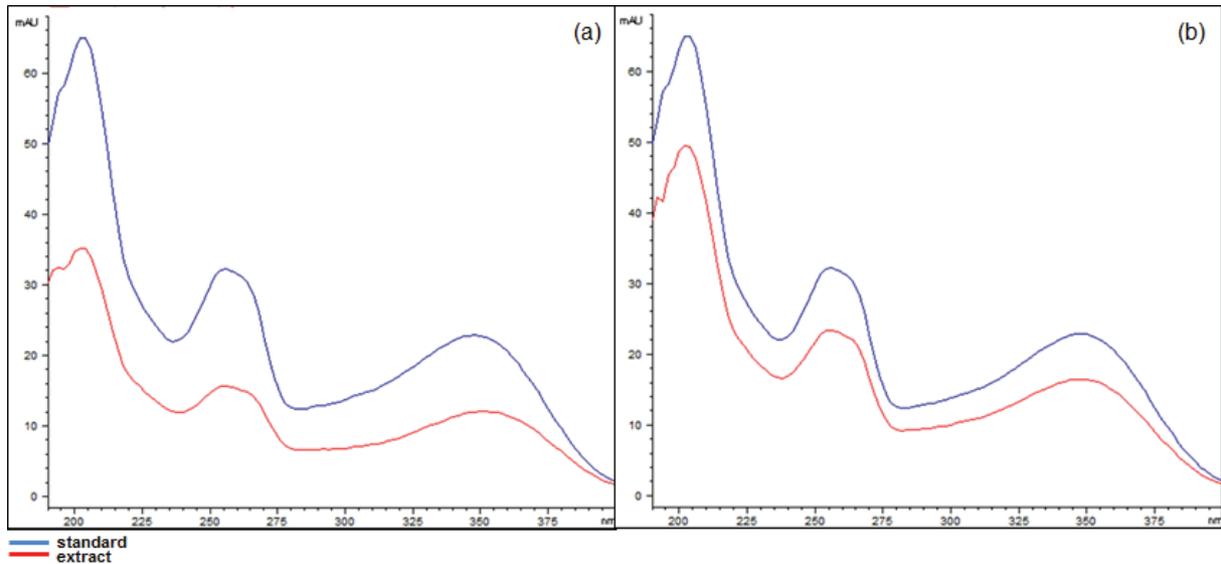


Figure 3. PDA (Photo diode array) spectrum of avicularin and quercitrin. (a) standard solution and *A. chinensis* extract of avicularin, (b) standard solution and *A. chinensis* extract of quercitrin.

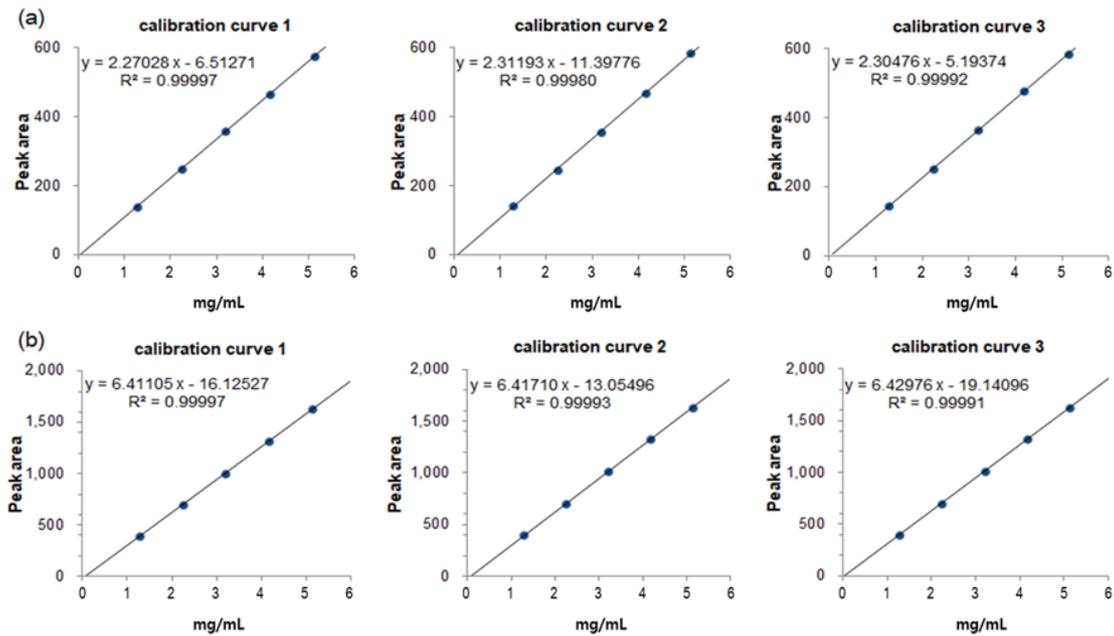


Figure 4. Calibration curves of (a) avicularin and (b) quercitrin in *A. chinensis* extract.

의 농도 조재하여 분석한 값을 이용하여 각각의 검량선을 작성하였다.(Figure 5). 노루오줌 추출물에서 avicularin 및 quercitrin의 상관계수(R²) 값은 0.99990 및 0.99994로 양호한 직선성을 나타내었고, avicularin과 quercitrin 표준품의 상관계수(R²) 값은 각각 0.99999로 양호한 직선성을 나타내었다.

3.3. 정밀성 확인

3.3.1. 반복성

균질한 검체로부터 다수의 시료를 취해 반복적으로 시험을 실시할 때 각 시험결과의 일치정도를 나타내는 것으로 노루오줌 추출물 1.6, 3.2 및 4.8 mg/mL의 세 농도로

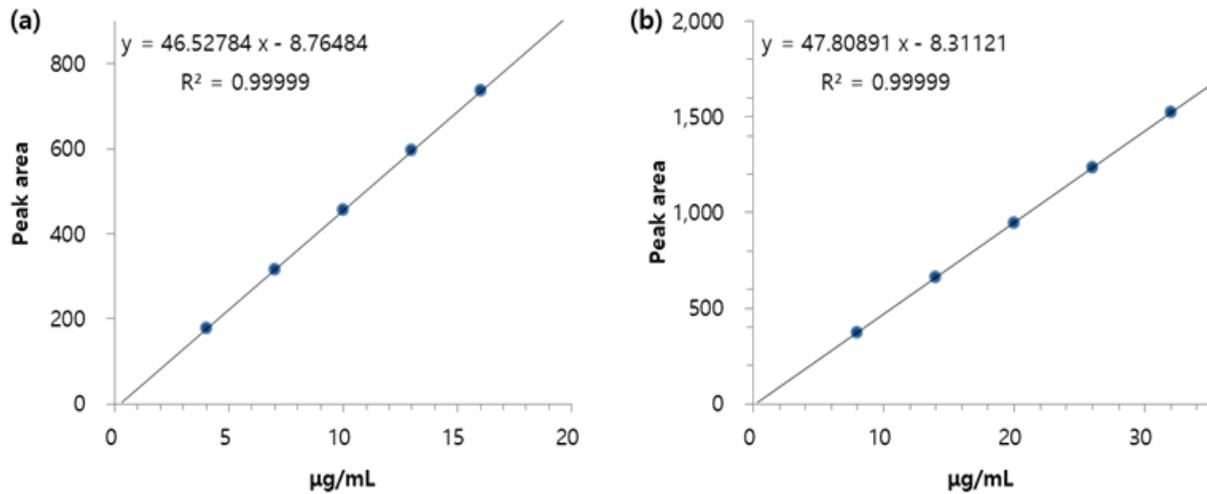


Figure 5. Calibration curves of (a) avicularin and (b) quercitrin by standard solution.

Table 2. Repeatability of Avicularin and Quercitrin Analysis

Parameters		Precision			
		Avicularin		Quercitrin	
		Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)
Concentration (1.6 mg/mL)	RT (min)	23.899 ± 0.14	0.58	26.393 ± 0.17	0.63
	Area	179.298 ± 1.06	0.59	500.947 ± 0.72	0.14
Concentration (3.2 mg/mL)	RT (min)	23.816 ± 0.07	0.28	26.290 ± 0.07	0.24
	Area	364.107 ± 0.93	0.26	1016.842 ± 2.13	0.21
Concentration (4.8 mg/mL)	RT (min)	23.808 ± 0.03	0.11	26.278 ± 0.02	0.09
	Area	555.096 ± 1.69	0.30	1533.859 ± 3.65	0.24

조제하고 동일한 HPLC 조건으로 6회 반복 주입하고 시험하여 얻은 결과 각 성분별 3가지 농도의 피크의 RT 및 피크면적의 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)는 avicularin 0.11 ~ 0.59% 및 quercitrin 0.09 ~ 0.63%로 나타나 RSD 2% 이하로서 반복성이 있음을 확인하였다 (Table 2).

3.3.2. 실험실내 정밀성

동일 실험실내에서 다른 실험일을 이용하여 얻은 측정값들 사이의 근접성을 나타내는 것으로 3가지 농도의 intra-day, inter-day의 정밀도를 측정한 결과는 Table 3과 같으며 intra-day에서의 정밀도는 avicularin 0.19 ~ 0.42% 및 quercitrin 0.11 ~ 0.28%를 나타내었고, inter-day에서는 avicularin 0.27 ~ 0.42% 및 quercitrin 0.12 ~ 0.20%의 정밀도를 나타내었다.

Table 3. Precision of Avicularin and Quercitrin in *Astilbe chinensis* extract for validation

	Precision			
	Avicularin		Quercitrin	
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)
	80.77 ± 0.34	0.42	80.12 ± 0.23	0.28
Intra-day	161.50 ± 0.30	0.19	160.42 ± 0.18	0.11
	242.47 ± 0.94	0.39	240.49 ± 0.52	0.22
	81.04 ± 0.26	0.33	80.33 ± 0.16	0.20
Inter-day	161.96 ± 0.68	0.42	160.81 ± 0.19	0.12
	243.19 ± 0.66	0.27	240.39 ± 0.29	0.12

3.4. 회수율을 이용한 정확성 확인

측정값이 이미 알고 있는 참값이나 표준값에 근접한 정도를 말하며, 노루오줌 추출물을 가지고 기재된 방법으로

기준농도의 50%, 100%, 150%에 해당하는 농도의 용액을 조제하고 동일한 HPLC 조건으로 6회 반복 주입하고 시험하여 회수율은 98.0 ~ 102.0%, RSD는 모두 2.0% 이하로서 정확성을 확인하게 된다.

노루오줌 추출물을 1.6, 3.2 및 4.8 mg/mL의 세 농도로 조제하고 동일한 HPLC 조건으로 6회 반복 주입하고 시험하여 얻은 결과 각 성분 3가지 농도의 회수율은 avicularin 100.97 ~ 101.77% 및 quercitrin 100.18 ~ 100.32%였으며 RSD는 avicularin 0.25 ~ 0.57% 및 quercitrin 0.14 ~ 0.24%로 나타나 RSD 2.0% 이하로서 정확성이 있음을 알 수 있었다(Table 4).

Table 4. Accuracy of HPLC Analysis for Avicularin and Quercitrin

Concentration (mg/mL)	Recovery (%)			
	Avicularin		Quercitrin	
	Mean ± SD	RSD (%)	Mean ± SD	RSD (%)
1.6	101.32 ± 0.57	0.57	100.18 ± 0.14	0.14
3.2	100.97 ± 0.25	0.25	100.32 ± 0.21	0.21
4.8	101.77 ± 0.31	0.30	100.23 ± 0.24	0.24

3.5. 검출한계 및 정량한계 확인

검출한계는 검체 중에 존재하는 분석대상물질의 검출 가능한 최소량을 말하며 정량한계는 적절한 정밀성과 정확성을 가진 정량값으로 표현할 수 있는 검체 중 분석대상물질의 최소량을 나타낸다. 노루오줌 추출물의 직선성 시험용액 3개의 그룹에 대한 각각의 검량선을 작성하여 검량선의 기울기와 y 절편을 구하였다. 각각의 검량선에서 기울기의 평균값과 y 절편에 대한 표준편차를 구하여 반응의 표준편차와 검정곡선의 기울기에 근거하는 방법(standard deviation of the response and the slope)으로 검출한계 및 정량한계를 계산하였다(Table 5). 직선상의 검출한계(LOD)는 avicularin 0.094 mg/mL 및 quercitrin 0.031 mg/mL이었으며 정량한계(LOQ)는 avicularin 0.285 mg/mL 및 quercitrin 0.095 mg/mL로 나타났다.

Table 5. Limit of Detection and Limit of Quantitation of Avicularin and Quercitrin

Instrument	Limit of detection (mg/mL)		Limit of quantitation (mg/mL)	
	Avicularin	Quercitrin	Avicularin	Quercitrin
	HPLC 1100 series (Agilent Technologies)	0.094	0.031	0.285

4. 결 론

본 연구는 HPLC를 이용하여 노루오줌 추출물을 기능성 화장품 원료로 개발하기 위하여 지표성분인 avicularin 및 quercitrin의 분석법 설정과 분석법에 대한 검증을 실시하고자 하였다. 표준용액과 노루오줌 추출물은 다른 물질의 간섭 없이 분리되었으며, 표준용액과 추출물의 피크 유지시간이 일치한 spectrum을 나타내었다. 또한 blank에서 표준용액과 겹치는 피크가 없는 것으로 특이성을 확인하였다. 검량선의 상관계수(R^2)는 avicularin 0.99990 및 quercitrin 0.99994로 양호한 직선성을 보였으며, 표준품을 이용한 검량선 상관계수 또한 avicularin 및 quercitrin 모두 0.99999의 직선성을 확인하였다. 직선상의 검출한계(LOD)는 avicularin 0.094 mg/mL 및 quercitrin 0.031 mg/mL이었으며 정량한계(LOQ)는 avicularin 0.285 mg/mL 및 quercitrin 0.095 mg/mL로 나타났다. 노루오줌 추출물을 1.6, 3.2 및 4.8 mg/mL의 세 농도의 회수율은 avicularin 100.97 ~ 101.77% 및 quercitrin 100.18 ~ 100.32%였으며 RSD는 avicularin 0.25 ~ 0.57% 및 quercitrin 0.14 ~ 0.24%로 나타나 RSD 2.0% 이하로서 정확성이 있음을 알 수 있었다. 정밀성은 avicularin 0.11 ~ 0.59% 및 quercitrin 0.09 ~ 0.63%의 정밀도를, intra-day에서의 정밀도는 avicularin 0.19 ~ 0.42% 및 quercitrin 0.11 ~ 0.28%, inter-day에서는 avicularin 0.27 ~ 0.42% 및 quercitrin 0.12 ~ 0.20%의 정밀도를 나타내어 노루오줌 추출물의 지표성분 avicularin 및 quercitrin의 분석법은 적합한 시험방법임이 검증되었다. 본 분석법은 노루오줌 추출물의 기능성 화장품 원료 개발을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

Acknowledgment

본 논문은 산림청(한국임업진흥원) 산림과학기술 연구개발사업(2017027A00-1819-BA01)의 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

Reference

1. H. S. Hwang, Prospects for development of cosmetic industry using natural products in Chungbuk, *International Symposium on Natural Resources Industry & 2018 International Conference of The Plant*

- Resources Society of Korea*, 26, Jecheon-si (2018).
2. Z. Fang, C. M. Shen, D. C. Moon, K. H. Son, J. K. Son, and M. H. Woo, Quantitative and pattern recognition analyses for the quality evaluation of magnoliae flos by HPLC, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **31**(11), 3371 (2010).
 3. N. T. Yen, N. V. Thu, B. T. Zhao, J. H. Lee, J. A. Kim, J. K. Son, J. S. Choi, E. R. Woo, M. H. Woo, and B. S. Min, Quantitative determination of compounds from *Akebia quinata* by High-performance liquid chromatography, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **35**(7), 1 (2014).
 4. Ministry of Food and Drug Safety, The Korean Pharmacopeia, ed. Ministry of Food and Drug Safety, 1366, Shinilbooks, Seoul (2008).
 5. E. K. Kim, Master's Thesis Dissertation, Chung-Ang University, Seoul, Korea (2003).
 6. J. H. Nho, J. H. Jang, H. K. Jung, M. J. Lee, M. O. Sim, D. E. Jeong, and H. W. Cho. Ethanol extracts from *Astilbe chinensis* (Maxim.) Franch. Et Savat. exhibit inhibitory activities on oxidative stress generation and viability of human colorectal cancer cells, *KJMCS*, **26**(2), 141 (2018).
 7. K. J. Oh, Y. S. Choi, I. S. Choi, S. K. Park, K. H. Lee, S. G. Chung, and E. H. Cho. Analgesic components of the rhizoma of *Astilbe chinensis* var. *dauidii*, *Yakhak Hoeji.*, **36**(5), 474 (1992).
 8. T. C. Moon, C. X. Lin, J. S. Lee, D. S. Kim, K. H. Bae, K. H. Son, H. P. Kim, S. S. Kang, J. K. Son, and H. W. Chang. Antiinflammatory activity of astilbic acid from *Astilbe chinensis*, *Biol. Pharm. Bull.*, **28**(1), 24 (2005).
 9. H. Sun, J. Zhang, Y. Ye, Y. Pan, and Y. Shen. Cytotoxic pentacyclic triterpenoids from the rhizome of *Astilbe chinensis*, *Helvetica Chimica Acta.*, **86**(7), 2414 (2003).
 10. Y. B. Zhang, Peng X. Y. Peng, and H. X. Sun. A new cytotoxic, apoptosis-inducing triterpenoid from the rhizomes of *Astilbe chinensis*, *Chem. Biodivers.*, **5**(1), 189 (2008).
 11. J. H. Chung, S. H. Youn, O. S. Kwon, K. H. Cho, J. I. Youn, and H. C. Eun, Regulations of collagen synthesis by ascorbic acid, transforming growth factor- β and interferon- γ in human dermal fibroblasts cultured in three-dimensional collagen gel are photoaging- and aging-independent, *J. Dermatol. Sci.*, **15**(3), 188 (1997).
 12. T. W. Jang, J. S. Choi, H. K. Kim, E. J. Lee, M. W. Han, K. B. Lee, D. W. Kim and J. H. Park, Whitening activity of *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves according to the ratio of prethanol A in the extracts, *Korean. J. Plant Res*, **31**(6), 667 (2018).
 13. K. J. Lee, J. R. Lee, M. J. Shin, G. T. Cho, H. S. Lee, K. H. Ma, G. A. Lee and J. W. Chung, Antioxidant and biological activity in the leaves of Adzuki Bean (*Vigna angularis* L.), *Korean J. Plant Res*, **31**(3), 237 (2018).
 14. S. A. Wiseman, D. A. Balentine, and B. Frei, Antioxidants in Tea, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **37**(8), 705 (1997).
 15. J. Kang, Z. Li, T. Wu, G. S. Jensen, A. G. Schauss and X. Wu, Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp(*Euterpe oleracea* Mart.), *Food Chemistry*, **122**, 610 (2010).
 16. H. Takayuki, U. Eriko, and A. Hitoshi. Skin-lightening effect of a polyphenol extract from Acerola(*Malpighia emarginata* DC.) fruit on UV-induced pigmentation, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**(12), 3211 (2008).
 17. C. Jennifer, C. M. Stephanie, S. B. Abhishri, and B. U. Shalini, A review on skin whitening property of plant extracts, *International Journal of Pharma and Bio Science*, **3**(4), 332 (2012).
 18. H. M. Yang, Y. M. Ham, W. J. Yoon, S. W. Roh, Y. J. Jeon, T. Oda, S. M. Kang, M. C. Kang, E. A. Kim, D. Kim, and K. N. Kim, Quercitrin protects against ultraviolet B-induced cell death *in vitro* and in an *in vivo* zebrafish model, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **114**, 126 (2012).