

우방자로부터 추출한 악티게닌의 미백효과

김태현 · 박종권 · 정노희[†]

충북대학교 공과대학 공업화학과
(2015년 8월 7일 접수; 2015년 8월 11일 수정; 2015년 8월 21일 채택)

Whitening Effects of Arctigenin Extracted from the Arctii Fructus

Tae-Hyeon Kim · Jong-Kwon Park · Noh-Hee Jeong[†]

*Department of Engineering Chemistry, College of Engineering
Chungbuk National University Chemistry
Cheong-ju 361-763, Korea*

(Received August 7, 2015; Revised August 11, 2015; Accepted August 21, 2015)

요약 : 본 연구에서는 초임계추출 및 생물전환공정을 통하여 우방자로부터 악티게닌을 얻었다. 악티게닌은 항염증, 항인플루엔자 등의 효능이 있기 때문에 다양한 분야에서 연구되고 있다. 제조된 악티게닌은 FT-IR, ¹H-NMR 분석결과 4-[(3,4-Dimethoxyphenyl) methyl]dihydro-3-[(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methyl]-2(3H)-furanone(arctigenin)임을 확인하였고, HPLC 분석결과 95.1 % 순도임을 확인하였다. 활성물질에 대한 티로시나아제 저해 효과를 확인한 결과, 농도 의존적으로 260 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 85.06 ± 0.9 % 를 저해하였으며, 멜라닌 생성 억제 효과를 확인한 결과 3.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 51.1 ± 3.7 % 를 억제하는 것을 확인하였고 악티게닌이 알부틴 보다 효과가 있음을 확인하였다. 결론적으로 제조된 악티게닌은 미백화장품에 활용 가능성이 기대된다.

주제어 : 우방자, 악티게닌, 미백효과, 화장품, 생물전환

Abstract : In this study, Arctigenin was obtained by using supercritical fluid extraction and bio-conversion process from Arctii Fructus. Arctigenin is efficacious in anti-inflammatory and anti-influenza. For this reason, Arctigenin is studied in various field. It was identified as 4-[(3,4-Dimethoxyphenyl)methyl]dihydro-3-[(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methyl]-2(3H)-furanone (arctigenin) by FT-IR, ¹H-NMR and the purity of it was 95.1 % by HPLC analysis. Arctigenin inhibited tyrosinase (up to 85.06 ± 0.9 % at 260 $\mu\text{g}/\text{ml}$ concentration) and melanin synthesis in a dose dependent manner (up to 51.1 ± 3.7 % at the concentration of 3.0 $\mu\text{g} / \text{ml}$). The results were better than arbutin. Therefore, it is expected that manufactured Arctigenin is useful for whitening cosmetics.

Keywords : Arctii Fructus, Arctigenin, Whitening Effects, Cosmetic, Bioconversion

[†]Corresponding author
(E-mail: nhjeong@cbnu.ac.kr)

1. 서론

최근 삶의 질을 향상시키고자 하는 욕구와 함께 성형, 미용, 화장에 대한 일반 대중의 관심이 높아지고 있으며, 특히 기능적 측면이 강조된 미백화장품 및 주름개선 화장품의 수요가 증가되고 있다.[1, 14].

멜라닌은 피부, 머리카락 등 생물체에 널리 분포되어 있는 색소 성분으로 인체 표피층의 멜라닌세포 내의 멜라노솜에서 합성되는데, 티로시나아제에 의해 티로신을 출발 물질로 하여 3,4-dihydroxy-phenylalanine (DOPA) 또는 도파키논으로 변환되는 산화 및 중합 반응으로 생합성 된다. 멜라닌은 자외선과 같은 피부자극에 대해 저항력을 높여 주지만, 과도한 멜라닌 합성은 피부에 기미, 검버섯, 주근깨와 같은 색소 침착을 일으키게 된다[2].

미백 및 주름개선에 대한 대중의 관심은 미백 화장품의 수요의 증가로 이어지고 있으며, 생물전환(bioconversion) 및 생촉매(enzymatic catalyst)를 이용한 친환경적인 유기합성 화장품이 개발되고 있다[3].

생물전환이란 미생물과 효소를 활용하여 발효로부터 여러 가지 대사산물을 생산 및 제조하는 기술을 말한다. 생물전환 공정은 기존의 발효공정과 비교해 볼 때 비록 발효공정이 생물전환공정보다 간단한 원료물질에서 출발하고 있으나, 생물전환 공정은 미생물 또는 효소의 기질에 대한 선택성을 활용하여 전구물질로부터 대사산물을 생산한다는 점에서 차이점을 가지고 있다. 이런 점에서 생물전환 공정은 발효기술을 한 단계 발전시켜 의약품, 건강기능성 식품, 발효식품, 화장품의 개발에 활용되고 있다[4]. 생물전환 및 효소에 의한 방법에 의해 배당체의 당이 가수분해될 수 있고, 이렇게 생산된 비배당체는 체내 흡수 및 그 약리 활성 면에서 배당체 보다 월등한 것으로 알려져 있다[5].

우방자(*Arctii Fructus*)는 오실(惡實), 서점자(鼠粘子), 대력자(大力子) 등으로도 불려지고 있는 국화과(Compositae)에 속하는 우영(*Arctium lappa Linne*)의 성숙한 과실로 한국, 중국 등 아시아에서 널리 분포하며 민간에서 거담지해(祛痰止咳), 소산풍열(疏散風熱), 청열해독(淸熱解毒), 소염 또는 피부질환 등에 이용되고 있다[6, 7]. 주요 성분으로는 악틴과 악티게닌이 함유되어 있으며 또한 이소악티게닌, 지방유, 지방산 등이 있

다. 지방산의 주요성분은 아라키드산이며 소량의 스테아르산, 팔미트산, 리놀산 등이 있다[8-10].

악티게닌은 예전부터 중국에서 감기, 후두 부종, 매독, 홍역 등의 염증을 치료하는데 널리 사용되어 왔다[11]. 최근 연구에 의해 알려진 악티게닌의 효능에는 항염증, 항암, 항바이러스, 항 HIV, 항인플루엔자 등에 대한 효과가 밝혀졌으며, 신경보호에도 효과가 있다는 연구보고가 있다[12].

우방자에 대한 연구는 혈관 이완효과 및 작용기전에 대한 연구, 아토피 피부염에 대한 효과, 항알러지 염증반응에 미치는 영향에 대한 연구 등이 있다[15-17]. 그러나 미백에 관한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 우방자를 초임계추출법으로 오일을 제거한 후, 우방자 박에 풍부한 악틴성분을 *Aspergillus oryzae* 균주를 이용하여 생물전환 공정 및 초임계추출법으로 악티게닌을 제조하였다. 제조된 악티게닌의 구조를 확인하기 위하여 FT-IR과 ¹H-NMR 분석을 행하였다. 티로시나아제 저해효과 측정 및 멜라닌 생성 억제효과 측정을 통하여 미백효과가 있음을 확인하였으며, 화장품 제형 중 스킨과 크림에 적용하여 미백 기능성 소재로서의 응용 가능성을 연구하였다.

2. 실험

2.1. 재료 및 장치

본 실험에 사용한 우방자는 2013년 경북 안동에서 생산된 것을 구입하여 가볍게 수세한 후 건조하여 사용하였다.

우방자로부터 악티게닌 제조시 효모추출물, 글루코오스는 Sigma-Aldrich Co.(USA) 제품을 사용하였고, *Aspergillus oryzae* 균주 및 B16-F10 Melanoma cell 는 (주)한국세포주은행(Korea) 제품을 사용하였으며, Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum(FBS), 항생제인 penicilin-streptomycin, 3,4-dihydroxy phenylalanine (L-DOPA), mushroom tyrosinase, α -melanocyte stimulation hormone(α -MSH), phosphate buffered saline(PBS) 시약들은 Gibco BRL Co.(USA) 제품을 사용하였으며, 알부틴, 악티게닌, 인산나트륨은 Sigma-Aldrich Co.(USA)에서 구입하여 사용하였다. 부틸렌글리콜은 Oxeo Co. (USA)을 구입하여 사용하였다.

크림 제조에 사용된 호모믹서는 TK Mark II F Model(Takushu Kika, Japan), 물리적 평가에 사용되어진 pH 측정기는 Orion 370A1(Orion, Korea), 점도계는 Brookfield LVT(Brookfield, USA), 배양기는 VS-1203P5N-O (Vision, Korea)를 사용하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 우방자로부터 악티게닌의 제조

초임계 추출장치는 R-401 Series SFE System(Reaction Engineering, Inc., Korea)을 사용하였다. 우방자를 추출 용기에 300 g을 넣어 일정한 온도와 압력의 추출조건에서 CO₂의 유속은 2 mL / min, 추출시간은 120분으로 추출하였다. 초임계 추출을 통해 유지를 제거하였다. 초임계 추출을 하고 남은 우방자 박을 32.5 g, 효모추출물 5 mL, 글루코스 5 mL를 각각 넣은 후 증류수를 채워 500 mL를 제조하고, 2N NaOH을 이용하여 전체 혼합액의 pH를 7.0으로 조절한 후, 가압 멸균하여 우방자 박 배지를 제조하였다.

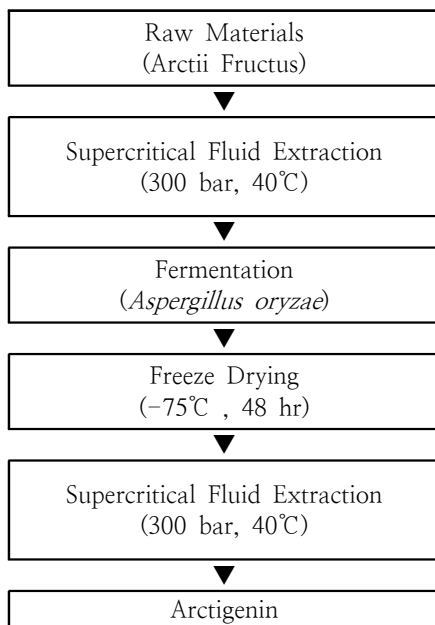


Fig. 1. Preparation process of arctigenin.

균주(*Aspergillus oryzae*(KCCM 11530)) 배양

액을 우방자 박 배지의 2% (v/w)가 되게 접종하고, 37°C 에서 48시간 동안 교반 배양하였다. 배양이 완료된 발효액을 동결건조 후 다시 초임계 추출장치에 넣고 40°C, 300 bar 추출조건에서 CO₂ 유속은 2 mL / min 추출시간은 120분으로 하여 악티게닌을 추출하였다. 제조 과정은 Fig. 1에 나타내었다.

2.2.2. 티로시나아제 저해효과 측정

티로시나아제 저해효과 측정은 Masamoto의 방법에 따라 측정하였다[18]. 2.5 mM 3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA) 0.3 mL, 제조된 악티게닌과 알부틴 65-260 µg / mL 시료 용액 0.05 mL에 0.1 M 인산완충용액(pH 6.8)을 혼합하여 25°C에서 보관한 후, 여기에 mushroom tyrosinase(1,380 units/mL) 0.05 mL를 넣은 후 25°C에서 2분간 반응시켜 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.3. 세포배양 및 멜라닌 생성억제 효과 측정

실험에 사용된 B16-F10 melanoma cell의 세포배양은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)에 10% fetal bovine serum(FBS)와 1% 항생제를 포함하는 배지를 사용하였으며 CO₂ 배양기(5% CO₂, 37°C)에서 배양하였다.

멜라닌 생성 억제 효과측정은 Cho 등의 방법을 변형하여 측정하였다[20]. B16-F10 melanoma cell를 10% FBS가 함유된 DMEM으로 6 well plate에 1×10⁵ cells / well로 2 mL씩 넣고 5% CO₂, 37°C 조건 하에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 배양액을 제거하고 시험액(제조된 악티게닌 및 알부틴을 1.0, 2.0, 3.0 µg / mL)을 10% FBS 함유 DMEM 배양액에 넣고, 여기에 성장인자로 α-MSH(100nM)를 첨가하였으며, 5% CO₂, 37°C 조건으로 72시간 동안 배양하였다. 배양 후 배양액을 제거하여 PBS로 3회 세척하고 이것을 trypsin-EDTA로 처리하여 세포 펠렛을 회수하였다. 회수된 세포 펠렛을 10,000 rpm으로 10분 동안 원심 분리한 다음 상등액을 제거하였다. 그리고 이 세포 펠렛을 70°C에서 건조한 후 10% DMSO가 함유된 1M NaOH 400 µL를 넣어 90°C 항온조에서 세포내의 멜라닌을 얻었다. 이 액 100 µL를 96-well plate에 넣고 ELISA reader로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.4. 기기 분석

적외선 스펙트럼 분석은 제조된 아티게닌의 작용기를 확인하기 위하여 FT-IR Spectrophotometer (Jasco Co, 480 plus)를 사용하여 분석하였으며, 시료는 KBr 디스크를 제작하여 측정하였다.

수소핵 자기공명스펙트럼 분석은 제조된 아티게닌에 대한 $^1\text{H-NMR}$ chemical shift 측정은 수소핵자기공명분석기(Bruker Co, Avance 500 MHz)를 사용하였고, 내부 표준물질로는 TMS(tetramethyl silane)를 사용하였고, 이에 대한 용매로는 CDCl_3 를 사용하였다.

제조된 아티게닌에 대한 HPLC(Agilent Technologies, Agilent 1100) 분석은 아티게닌을 10 mL 용량 플라스크에 넣고 메탄올로 눈금을 맞춘 후 60분간 초음파기기를 이용하여 초음파 처리 시킨 후 syringe filter(0.2 μm)로 여과한 후 분석하였다. 아티게닌에 대한 HPLC 분석 조건은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. HPLC Condition for Analysis of Arctigenin

Items	Conditions
Column	ZORBAXEclipse XDB-C18
Guard Column	ZORBAXEclipse XDB-C8
Column	25°C
Oven Temp.	
Mobile phase	0.1% Acetic acid :
Detector	MeOH=40 : 60
Flow rate	0.3mL / min
Detector & wavelength	UV 250nm
Injection volume	1 μL

2.2.5. 아티게닌 함유 크림 제조 및 안정성

실험에 사용된 크림 조성은 Table 2 와 같으며 동일한 조성에서 제조된 아티게닌을 포함한 크림을 Cream A, 포함하지 않은 크림을 Cream B로 구분하였다. 온도에 따른 안정성을 평가하기 위해 5°C, 25°C, 37°C 및 45°C 조건으로 Cream A, Cream B 에 대한 안정성을 평가하기 위해 4주 동안 각 온도에 노출시켰으며, 실험기간 동안 1주 간격으로 pH를 측정하였다. Cream A,

Cream B는 25°C 온도에 노출 후 1주 간격으로 점도를 측정하였다. pH와 점도를 측정하여 물리화학적 특성을 파악하였으며 변취 및 변색을 관찰함으로써 안정성을 확인하였다. pH 측정은 내용물을 매회 2 g씩 취하여 증류수를 30 mL 채운 후 초음파 분해기로 분해시킨 후 pH를 측정하였다.

측정시 온도를 $25\pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하였다. 점도 측정은 본 실험에서는 축의 종류와 회전수를 spindle D, 12 rpm으로 30초 동안 측정하였고, 측정 시 온도를 $25\pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하였다.

Table 2. Formulation of Cream A and B

Phase	Component	Cream A Content (%)	Cream B Content (%)
A	D-water	Up To 100	Up To 100
	EDTA-2Na	0.02	0.02
	Tri amino ultra pc	0.03	0.03
	1,3 Butylene glycol	2.00	2.00
B	D-water	5.00	5.00
	Keltrol F	0.10	0.10
C	Arlacel 165	2.50	2.50
	Refined shea butter	15.00	15.00
	Lanette O	2.00	2.00
	KF96/6CS	1.00	1.00
	Glycerine	10.00	10.00
D	Dermosoft octiol	0.50	0.50
	Sepigel 305	0.70	0.70
E	Phenoxyethanol	0.30	0.30
	Fragrance	0.10	0.10
F	Arctigenin BG 1 %	1.00	-

3. 결과 및 고찰

3.1. 우방자 추출물의 제조 및 분석결과

Fig. 1 공정으로 우방자로부터 아티게닌을 제조한 후, HPLC 분석결과 95.1%의 순도를 확인하였다. 제조한 아티게닌의 적외선 스펙트럼을 살펴보면 아티게닌의 특정 작용기라 할 수 있는 C-O기의 신축진동 피크는 1298 cm^{-1} , C-C기의 신축진동 피크는 1589 cm^{-1} , C=O기의 신축진동 피크는 1764 cm^{-1} , C-H기의 신축진동 피크는 2964 cm^{-1} 과 2910 cm^{-1} , =C-H기의 신축진동 피크는 3081 cm^{-1} , O-H기의 신축진동 피크는

3422 cm^{-1} 파장에서 나타난 것을 확인하였다.

수소핵 자기공명스펙트럼에서 관측되는 2.64 ppm 범위의 시그널은 디하이드로퓨란의 수소에 해당하고, 2.85 ppm 범위의 시그널은 디하이드로퓨란과 벤젠 사이에 있는 메틸렌의 수소에 해당한다. 3.83 ppm 범위의 시그널은 벤젠의 메톡시기의 수소에 해당하고, 4.20 ppm 범위의 시그널은 벤젠에 있는 수산화기에 해당하며, 6.42~6.80 ppm 범위의 시그널은 벤젠의 수소에 해당한다. 이와 같이 FT-IR과 $^1\text{H-NMR}$ 을 통해 악티게닌이 제조되었음을 알 수 있었다.

3.2. 티로시나아제 저해효과 측정

티로시나아제는 Tyrosine을 3,4-dihydroxy phenylalanine(DOPA)로 변환하는 tyrosine hydroxylase활성과 DOPA를 DOPA quinone으로 전환하는 DOPA oxidase 활성을 모두 가지고 있어 멜라닌 합성 과정에서 가장 중요한 역할을 하고 있다. 제조된 악티게닌을 mushroom tyrosinase을 이용하여 *in vitro* 티로시나아제 저해효과 실험 결과는 Fig. 2 와 같다. 제조된 악티게닌은 260 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 에서 85.06%의 높은 저해 활성을 보였다. 제조된 악티게닌은 농도가 증가함에 따라 티로시나아제 저해 활성율이 증가함을 확인하였다. 또한, *in vitro* 티로시나아제 활성효과시험에서 제조된 악티게닌의 IC_{50} 값은 79 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 로 확인되었다. 양성 대조군으로 식품의약품안전처 고시 기능성화장품 고시원료인 알부틴을 사용하였으며, 알부틴의 IC_{50} 값은 110 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 로 확인되었다. 예전부터 미백소재로 사용되어온 알부틴보다 더 높은 티로시나아제 저해효과를 나타내고 있으므로 미백효능이 월등하다고 사료된다.

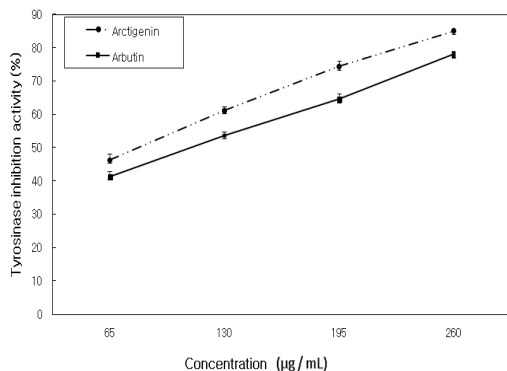


Fig. 2. Tyrosinase inhibition activity of manufactured Arctigenin and Arbutin.

3.3. 멜라닌 생성억제효과 측정

멜라닌 생성억제효과 실험에서는 세포 배양된 B16-F10 melanoma cell을 이용하여 실험하였다. 제조된 악티게닌 및 알부틴의 세포내 멜라닌 생성억제 실험결과는 Fig. 3 과 같다. 제조된 악티게닌에 대한 멜라닌 생성억제효과는 농도가 증가함에 따라 높은 생성 억제율이 증가하였다. 1 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 2 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 3 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 모두 알부틴보다 멜라닌 생성 억제율이 높았으며, 3 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 에서는 51.1%의 생성 억제율을 나타내었다. Lee 등의 연구에서도 악티게닌 0.5 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 에서 21.9%, 3.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 에서는 52.7%로 멜라닌 생성억제효과가 있음을 확인하였고 제조된 악티게닌이 알부틴보다 매우 높은 미백 활성을 가지는 것으로 사료된다.

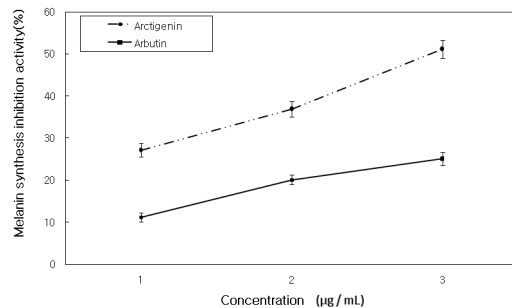


Fig. 3. Melanin synthesis inhibition activity of manufactured Arctigenin and Arbutin in B16-F10 melanoma cell.

3.4. 악티게닌 함유 스킨과 크림의 평가

제조된 악티게닌을 화장품제형 중 크림제형에 적용하여 물성변화 및 제품안정성을 관찰하였다. 안정도 관찰 실험 중 pH 변화에 대한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 시험 크림의 초기 pH는 7.07이었고 온도별 저장 조건에서 4주 후 5 $^{\circ}\text{C}$, 25 $^{\circ}\text{C}$, 37 $^{\circ}\text{C}$, 45 $^{\circ}\text{C}$ 에서 각각의 pH가 7.02, 6.82, 6.73, 6.63를 확인하였다. 시험 크림의 pH는 6.60~7.10 범위 내에 분포함을 알 수 있었다. 대조 크림의 초기 pH는 7.05이었고 5 $^{\circ}\text{C}$, 25 $^{\circ}\text{C}$, 37 $^{\circ}\text{C}$, 45 $^{\circ}\text{C}$ 에서 각각의 pH가 7.05, 6.97, 6.83, 6.77로 측정되었다. 45 $^{\circ}\text{C}$ 에서 가장 큰 pH 변화를 보였으나 대조제품과 비슷한 pH 변화로 보아 제조된 악티게닌에 의한 제형 변화로 보기는 어렵다고 판단된다.

제조된 악티게닌을 함유한 크림과 함유하지 않은 크림의 점도변화를 Fig. 5에 나타내었다. 함

유크림과 함유하지 않은 크림의 최초 점도는 31000 cPs와 32500 cPs로 1500 cPs의 차이가 있었으나 미약한 차이였다. 4주 후 점도는 관찰 결과 비슷한 변화를 확인하였다. 악티게닌의 함유 유무에 따른 제형 변화는 없는 것으로 판단된다.

크림의 온도 조건에 따른 안정성을 평가하기 위하여 5°C, 25°C, 37°C, 45°C에서 4주 동안 관찰한 결과 크리밍이나 합일과 같은 분리 현상은 관찰되지 않았으며, 관능평가인 변색 및 변취 에 서도 특이한 사항이 관찰되지 않았다.

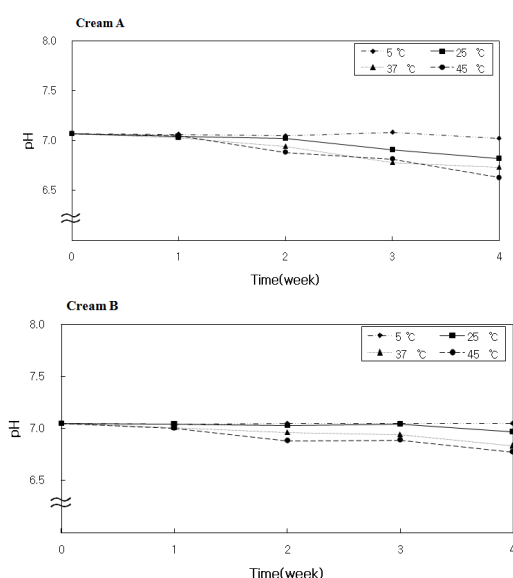


Fig. 4. pH changes of cream A and B with times.

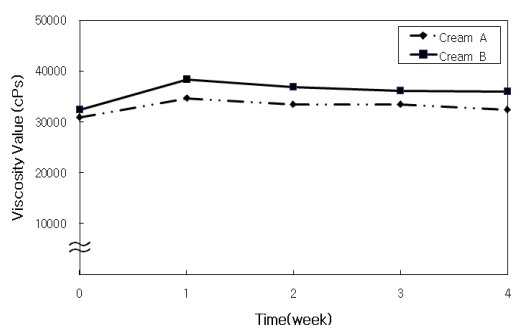


Fig. 5. Viscosity changes of cream A and B with times.

4. 결론

본 연구에서는 우방자로부터 친환경적인 초임 계추출법과 생물전환공정을 이용하여 순도 높은 악티게닌을 제조하였다. 제조한 악티게닌의 구조 및 *in vitro* 미백효과를 측정하였으며, 화장품에 적용하여 안정성을 평가하였으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 초임계추출법 및 *Aspergillus oryzae* 균주를 이용한 생물전환공정을 통하여 우방자로부터 악티게닌을 제조하였다.
2. FT-IR, ¹H-NMR 분석결과 제조된 성분이 악티게닌인 것을 확인하였고, HPLC 분석결과 순도가 95.1%임을 확인하였다.
3. 티로시나아제 저해효과 측정 결과 260 µg / mL의 농도에서 85.06%로 높은 저해율을 나타내었으며, 멜라닌 생성억제효과를 측정한 결과 3 µg / mL의 농도에서 51.1%로 높은 생성 억제율을 나타내었다.
4. 제조된 악티게닌을 크림에 적용하여 pH, 점도 및 변색, 변취 등을 관찰하여 안정성을 입증하였으며, 결론적으로 제조된 악티게닌은 미백효과를 부여하는 화장품으로 활용 가능성이 기대된다.

References

1. S. J. Yang and T. B. Choe, Antioxidant activity and whitening effect of for sythiae fructus extracts, *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **19**, 472-477(2011).
2. G. E. Costin, and V. J. Hearing, Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress, *FASEB J.* **21**, 976-994(2007).
3. S. H. Kwon, Thesis for Master, Production of natural butter lactones via microbial biotransformation, *Sejong University*(2007).
4. R. Fuller, Probiotics in man and animals, *J. Appl. Bacteriol.*, **66**, 365-378(1989).

5. D. H Kim, "Ginseng and health", Hyoil, Seoul, 29-47(2005).
6. S. Awale, J. Lu, S. K. Kalauni, Y. Kurashima, Y. Tezuka, S. Kadota, and H. Esumi, Identification of arctigenin as an antitumor agent having the ability to eliminate the tolerance of cancer cells to nutrient starvation, *Cancer Res.*, **66**, 1751-1757(2006).
7. M. K. Cho, Y. P. Jang, Y. C. Kim and S. G. Kim, Arctigenin, a phenylpropanoid benzylbutyrolactone lignan, inhibits MAP kinases and AP-1 activation via potent MKK inhibition: the role in TNF-alpha inhibition, *Int. Immunopharmacol.*, **4**, 1419-1429(2004).
8. C. M. Kim, M. G. Sin, D. G. An, K. S. Lee, "Dictionary of Traditional Chinese Materia Medics", Jeongdam, Seoul, 4163-4167(1998).
9. H. J. Ji, S. I. Lee, "The Food and Drug Administration of Republic of Korea : Little Commentary", Korea medical index company, Seoul, 282(1988).
10. C. B. Lee, "The flora of Korea", Hyangmunsa, Seoul, 770(1982).
11. X. Kou, S. Qi, W. Dai, L. Luo and Z. Yin, Arctigenin inhibits lipopolysaccharide-induced iNOS expression in RAW264.7 cells through suppressing JAK-STAT signal pathway, *Int. Immunopharmacol.*, **11**, 1095-1102(2011).
12. D. J. Lee and S. S. Sim, Effect of arctigenin on tyrosinase activity and melanin production in B16 melanoma cells, *Yakhak Hoeji*, **56**, 395-400(2012).
13. J. N. Lee, J. H. Park, S. W. Kim, Y. K. Yoo, G. T. Lee and K. K. Lee, A study on the whitening effect of the oriental medicinal herb *Forsythia suspensa* fruit as a cosmetic ingredient, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**, 79-86(2007).
14. D. M. Kim, K. H. Kim, Y. S. Kim, J. H. Koh, K. H. Lee and H. S. Yook, A study on the development of cosmetic materials using unripe peaches seed extracts, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **41**, 110-115(2012).
15. K. C. Han, Thesis for Master, Effects of Arctii Fructus on the Atopic dermatitis, *Kyung Hee University*(2004).
16. G. E. Kim, S. K. Jung, H. J. Jung and H. J. Jang, Effect of Arctium lappa on the DNFB induced allergic dermatitis, *Korea J. Orint. Int.*, **31**, 201-211(2010).
17. J. Y. Nam, D. G. Kim and J. Y. Lee, Effect of woobangja on anti-allergic inflammation, *J. Korean Oriental Pediatrics*, **20**, 241-255(2006).
18. Y. Masamoto, H. Ando, Y. Murata, Y. Shimoishi, M. Tada, K. Takahata, Mushroom tyrosinase inhibitory activity of esculetin isolated from seeds of *Euphorbia lathyris L.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 631-634(2003).
19. J. H. Yoon, J. S. Shim, Y. Cho, N. I. Baek, C. W. Lee, H. S. Kim and J. K. Hwang, Depigmentation of melanocytes by iso-panduratin A and 4-hydroxypanduratin A isolated from *Kaempferia pandurata*, *Roxb. Biol. Pharm. bull.*, **30**, 2141-2145(2007).
20. Y. H. Cho, B. C. Lee, J. H. Kim, J. H. Kim, H. B. Pyo, Y. H. Zhang, H. D. Park, Effect of artemisia anomala S. Moore on antioxidant activity and melanogenesis, *Kor. J. Pharmacogn.*, **36**, 273-277(2005)