

밀리타리스 동충하초 열수추출물의 멜라닌 분비 억제능 효과

남병혁¹ · 조월순⁴ · 최유진⁴ · 이재윤¹ · 강은영³ · 정민호² · 이재동^{1*}

¹부산대학교 자연과학대학 미생물학과, ²동아대학교 의과대학 미생물학교실
³(제)부산테크노파크 해양생물산업육성센터, ⁴동남권원자력의학원

Inhibitory Effects of Melanin Secretion on B16 Melanoma cell of *Cordyceps militaris* Water Extract

Byung-Hyouk Nam¹, Wool-Soon Jo⁴, Yoo-Jin Choi⁴, Jae-Yun Lee¹, Eun-Young Kang³, Min-Ho Jeong²
and Jae-Dong Lee^{1*}

¹Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

²Department of Microbiology, Dong-A University Medical College, Busan 602-714, Korea

³Busan Techno-park Marine Bio-Industry Development Center, Busan 619-912, Korea

⁴Dong Nam Institute of Radiological & Medical Sciences, Busan 619-953, South Korea

(Received July 21, 2010. Accepted November 17, 2010)

ABSTRACT: The present study aims to evaluate *Cordyceps militaris* water extract (CMWE) with a view to develop melanogenesis inhibitors. Inhibitory activities of CMWE against tyrosinase, L-DOPA(L-3,4-dihydroxyphenylalanine) oxidation, and melanin biosynthesis in B16 mouse melanoma cells were investigated. CMWE, at 5000 µg/ml, inhibited tyrosinase activity of 71% and DOPA oxidation of 40% as reacting with L-DOPA. Furthermore, B16 mouse melanoma cell survived over 50% from low to high dose on MTT assay, and CMWE markedly inhibited (>50%) melanin synthesis at 5000 µg/ml. The inhibitory effect of CMWE on melanogenesis was attributed to enhancement of tyrosinase degradation. Key enzyme of melanin biosynthesis is tyrosinase which catalyses a beginning step from tyrosine to DOPA quinone and melanin formation step, respectively. These results indicated that CMWE may be a potential source of novel whitening agents for cosmetic or therapeutic application.

KEYWORDS : Melanogenesis, Melanoma, Militaris, Tyrlsinase, Whitening

서 론

최근 화장품뿐만 아니라 의약외품의 원료 공급원으로서 천연 물질이 주목받고 있으며(Aburjai and Natsheh, 2003), 피부트러블이나 자극성 없는 천연 소재를 사용한 화장품들이 대거 등장하고 있다.

피부에 영향을 주는 환경요인 중 가장 중요한 것은 자외선이다(Choi 등, 2006). 일정기간 피부가 자외선에 노출되면 홍반, 부종, 동통을 동반한 염증반응이 일어나며 표피와 각질이 두꺼워지고 색소 침착이 증가된다(Park, 1997; Lee 등, 2001).

피부의 색소침착은 표피의 기저층에 있는 멜라닌세포에 의해서 생성되는 멜라닌이 원인이다(Briganti 등, 2003). 멜라닌의 주요 기능으로는 미생물에서 자외선 조사, 전파, 건조, 극한온도 등에 대한 생존 능력을 높여주며, 동물의 피부와 모발에서는 자기보호를 위한 수단의 기능을 하지만(Agar and Young, 2005), 과도한 색소 침착은 기미와 주근깨를 형성

하고 피부노화를 촉진하는 등 미용적인 면에서 부정적인 기능을 나타낸다(Maeda and Fukuda, 1991).

멜라닌의 생합성은 주로 타이로시나아제의 작용에 의해 이루어지며 타이로시나아제에 의해 생성이 촉진되는 동물 멜라닌은 페오멜라닌(yellow and red melanin)과 유멜라닌(brown and black melanin)으로 구분된다. 타이로시나아제는 타이로신을 DOPA 퀴논으로 전환시키는 초기 반응 단계와 유멜라닌 형성 단계의 반응을 촉매하며, 타이로시나아제와 유사한 단백질(Tyrosinase related protein, TRP)은 타이로시나아제를 안정화시키는 기능을 하는 것으로 알려져 있기 때문에 타이로시나아제는 유멜라닌 형성에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어져 있다(Kobayashi 등, 1998).

현재 미백제 원료로 사용되고 있는 유효 성분 중 하이드로퀴논은 멜라닌 형성의 억제력이 높아 미백 활성 물질로 사용되고 있지만, DNA와 RNA 합성 모두에 영향을 줌으로써 세포물질대사의 가역적 저해를 초래하고 세포 독성이 강하여 유전자 변이까지 일으킬 수 있다고 보고되었으며(Terasaka 등, 2000), 누룩곰팡이의 이차 대사산물인 코지산 또한 타이로

*Corresponding author <E-mail : leejd@pusan.ac.kr>

시나아제의 활성화에 필요한 구리 이온(Cu^{2+})을 킬레이트 시켜 멜라닌 생성을 저해하는 우수한 미백효능을 나타내지만 사용 중의 변색, 물질 자체의 불안정성, 피부암 유발 같은 문제점이 있다는 보고가 있다(Cabanes 등, 1994). 알부틴(hydroquinone-D-glucopyranside)은 세포 독성이 없고 멜라닌 생성 억제 작용 및 타이로시나아제 활성을 저해하여 피부에 대한 미백제로 사용되고 있지만, 하이드로퀴논에 당이 붙어 있는 구조로 세포투과성 문제로 인해 미백활성이 상대적으로 저하된다는 보고가 있다(Sugimoto 등, 2004). 이로 인해 생체에 미치는 독성은 적으면서 타이로시나아제 억제 및 멜라닌합성을 감소시키는 미백효능이 있는 천연물질 탐색에 대한 관심은 날로 증가하고 있다.

동충하초는 겨울에는 곤충의 몸에 있다가 여름에 풀처럼 나타난다는 데서 유래한 말이다. 감염된 곤충으로부터 대형의 신장된 형태의 직립된 병을 가진 유색의 자낭자좌를 형성하는 것에 의해 최초로 곤충에 감염하는 균류로서 인식되었다(Lee, 1998). 예로부터 동충하초는 증류본초와 본초 비료를 비롯한 중의학문헌에 보폐보신(補肺補腎), 지혈화담(止血化痰), 비정익기(秘精益氣) 등의 효능이 있으며(Jo, 1998), 맛은 달(甘)고 따듯(溫)하며 향(香)이 있는 것으로 기록되어 있다(Bae and Keun, 1998). 에너지원인 탄수화물이나 당의 비율은 낮지만 비타민 A나 미네랄 등을 다른 종에 비해 풍부하게 함유하고 있어 건강기능성 식품으로 인지도가 높아지고 있다(Oh 등, 2003).

밀리타리스 동충하초는 일반적으로 항염증, 항균, 항종양, 면역증강 등 외부물질에 대한 방호작용, 자양강장, 정력증강, 항피로, 운동능력 향상, 노화방지, 수명연장 등 기초대사활성 증강작용, 그리고 동맥경화 억제, 콜레스테롤과 중성지방 저하, 혈당강화, 고혈압 치료 등 질병억제 및 완화 작용 등 다양한 기능성을 보유하고 있는 것으로 알려져 있지만(Park 등, 2002; Lee 등, 2002, 2004; Kim 등, 2001, 2002, 2004, 2005; Lim 등, 2004; Koh, 2001, 2002; Kwon 등, 2001). 피부관련 특히 미백작용에 관해서는 아직 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 밀리타리스 동충하초의 열수추출물로부터 멜라닌 분비억제능을 확인함으로써 향후 미백효능을 나타내는 유용 물질을 확보하는 근거를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 및 물질

본 연구에 사용된 밀리타리스 동충하초(*Cordyceps militaris*)는 김해 청원농산에서 제공받았다. L-tyrosine, L-DOPA, 타이로시나아제와 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)는 Sigma(St Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

밀리타리스 동충하초의 열수추출

밀리타리스 동충하초 시료 50g에 1L의 3차 증류수를 넣고

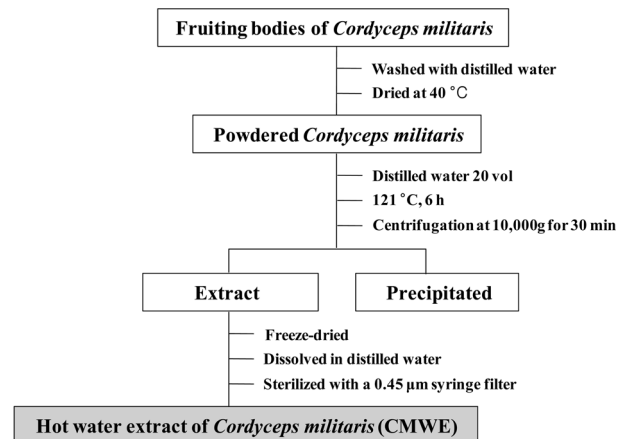


Fig. 1. The procedures for the hot water extract of *Cordyceps militaris* fruiting bodies (CMWE).

121°C에서 6시간 동안 열수추출 한 후, 10,000 g (4°C)에서 30분 동안 원심분리하여 상층액만 회수하여 동결 건조하였다. 동결건조하여 얻은 열수추출물(CMWE)을 3차 멸균증류수에 녹인 후, 필터(0.45 µm syringe filter)하여 시험에 사용하였다(Fig 1).

세포 배양

C57BL/6 마우스에서 유래한 immortalized cell line인 B16 melanoma 세포는 American Type Culture Collection (ATCC)에서 구입하였고, 세포배양은 10% FBS, 100 unit/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 그리고 200 nM TPA (tetradecanoyl phorbol acetate)를 포함하는 RPMI 1640 배지를 사용하여, 37°C, 5% CO_2 조건에서 배양하였다.

세포독성시험

밀리타리스 동충하초 열수추출물의 세포독성을 확인하고자 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay를 실시하였다. 이 방법은 MTT가 formazan으로 전환되는 것을 측정하는 것으로, 96 well plate에 1×10^4 cells/well의 B16 멜라노마 세포를 분주하고 37°C, 5% CO_2 incubator에서 24시간 동안 배양한 후, 밀리타리스 동충하초 열수추출물 농도별(0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/ml)로 24시간 동안 처리하였다. 24시간 후, 배양액을 제거하고, MTT를 최종농도 500 µg/ml이 되도록 각 well에 가한 후, 추가로 4시간 동안 37°C에서 반응시켰다. 배양액 170 µl를 제거하고 DMSO 용액 150µl를 첨가하여 생성된 formazan을 용해시킨 뒤, Microplate reader (Opsys MR, DYNEX, USA)를 이용하여 550 nm에서의 흡광도를 측정 하고 대조군과의 비교를 통해 상대적인 세포생존율 (% of control)을 계산하였다.

균사체 배양액의 농도별 멜라닌 생성 억제

멜라닌 생성 억제 효능을 평가하기 위하여 B16세포를 24 well plate에 1×10^5 cells/well이 되도록 분주하고 37°C, 5%

CO₂ incubator에서 24시간 안정화하였다. 안정화 된 세포에 밀리타리스 동충하초 열수추출물을 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/ml의 농도로 처리하여 7일 배양한 후, 처리된 세포를 1 N NaOH로 cell을 녹여 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌 표준품(Sigma, USA)으로 얻은 표준 검량선을 이용하여 각 well에서 생성된 멜라닌 양을 산출하였다.

타이로시나아제 활성억제능 측정

밀리타리스 동충하초 열수추출물의 *in vitro* 타이로시나아제 활성 억제율을 측정하기 위하여, 96 well plate에 L-tyrosine (1.5 mM) 40 µl와 밀리타리스 동충하초 열수추출물을 각각 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/ml의 농도로 첨가하고, 타이로시나아제 (2000 unit, Sigma Chemical Co., USA)를 20 µl씩 넣은 후 100 mM 인산완충용액으로 최종 200 µl가 되게 조절하였다. 타이로시나아제 활성 억제능은 37°C에서 15분 동안 반응 시킨 후 ELISA reader를 통해 490 nm에서 흡광도로 측정하여 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

저해율(%) =

$$[100 - (\text{시료첨가군 흡광도} / \text{무첨가군 흡광도})] \times 100$$

DOPA 산화 억제능 측정

DOPA 산화억제능은 DOPA를 기질로 사용하여, 타이로시나아제의 작용에 의해 DOPA chrome의 생성을 흡광도로 측정하는 방법이다. 요약하면, 96 well plate에 100 mM 인산 완충용액 100 µl, 타이로시나아제 (2000 unit, Sigma Chemical Co., USA)를 40 µl와 밀리타리스 동충하초 열수추출물을 각각 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/ml의 농도로 첨가 하였다. 37°C에서 5분간 반응하고 ELISA reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정한 후, L-DOPA (4 mM) 40 µl를 첨가하였다. 37°C에서 15분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 ELISA reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. DOPA 산화 억제능은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

저해활성(%) =

$$[100 - (\text{시료첨가군 반응 흡광도} / \text{무첨가군 반응흡광도})]$$

결 과

열수 추출물의 세포독성 확인

밀리타리스 동충하초 열수추출물의 마우스 B16 melanoma 세포에 대한 독성을 알아보기 위하여 MTT assay를 수행하였다. 열수추출물을 농도별(0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/ml)로 처리하여 24시간 후 세포생존율을 측정한 결과, 모든 농도에서 50% 이상의 생존율을 나타내었다(Fig. 2).

열수추출물의 멜라닌 생성 억제

밀리타리스 동충하초 열수추출물이 멜라닌 합성에 미치는

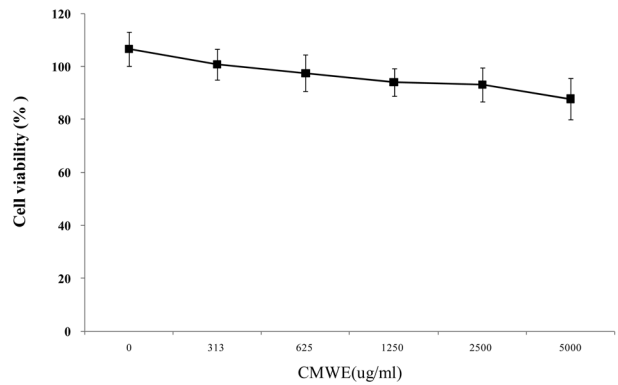


Fig. 2. Cytotoxicity of the hot water extracts of *Cordyceps militaris* fruiting bodies (CMWE) in B16 melanoma cell. Melanoma cells were treated with 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/ml of CMWE for 24 h. Cell viability was determined by MTT assay. Three independent assays were performed in triplicate and the data shown are the mean±SD.

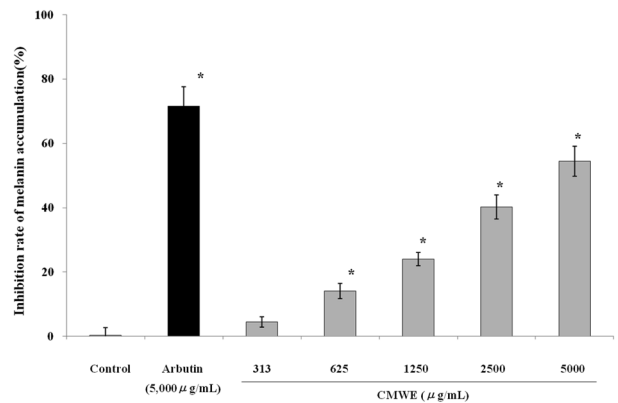


Fig. 3. Inhibitory effects of the hot water extract of *Cordyceps militaris* fruiting bodies (CMWE) on melanin accumulation in cultured B16 melanoma cells. B16 cells were treated with 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/ml of CMWE for 7 days. Arbutin was used as a positive control. Three independent assays were performed in triplicate and the data shown are the mean ±S.D. **P*<0.05 vs. media alone (control); significance of difference between treated groups by ANOVA followed by Dunnett's test.

영향을 확인하기 위해 마우스 B16 melanoma 세포를 이용하여 멜라닌 생성 저해 효과를 측정하였다. 준비된 세포에 열수추출물을 처리하고 7일 후, 흡광도를 이용하여 확인 한 결과 무처리 세포에 비하여 농도의존적으로 유의성 있게 멜라닌 생성 억제효과를 나타내었으며, 최고농도인 5000 µg/ml에서는 멜라닌 생성이 54% 억제됨을 확인하였다(Fig. 3). 양성대조군으로 사용한 알부틴은 5000 µg/ml에서 약 72% 멜라닌 감소 효과를 나타냈다.

타이로시나아제 활성억제 측정

밀리타리스 동충하초 열수추출물의 미백 작용을 확인하기 위하여 먼저 melanin 생성에 중요한 작용을 하는 타이로시

나아제에 직접적인 작용을 관찰하였다. 타이로시나아제는 L-타이로신을 L-DOPA로 전환시키고 이어서 L-DOPA를 L-DOPA 퀴논으로 산화시킨다. 이때 시스테인이나 티올기를 갖는 물질이 없을 때 자발적으로 L-DOPA 크롬이 형성된다 (Hearing and Jimenez, 1987, 1989). 타이로시나아제의 기질을 L-타이로신을 이용하여 활성을 측정하였을 때, 밀리타리스 동충하초 열수추출물은 농도의존적으로 유의성 있게 타이로시나아제의 활성을 억제하였고, 최고농도인 5000 µg/ml에서는 약 71% 억제 효능을 나타내었다(Fig. 4A). 양성대조군으로 사용한 비타민 C는 5000 µg/ml에서 약 99% 활성을 억제하였다.

DOPA 산화 억제능

타이로시나아제의 기질을 L-DOPA를 이용하여 밀리타리스 동충하초 열수추출물의 DOPA 산화 억제능을 확인한 결과, L-타이로신을 기질로 사용하였을 때 보다는 낮은 억제율을 나타내었고, 농도의존적으로 유의성 있게 DOPA 산화를

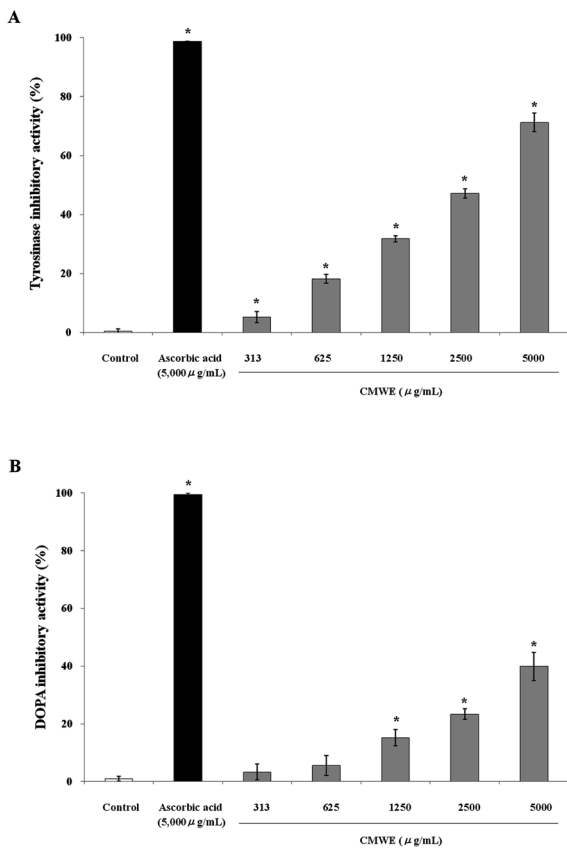


Fig. 4. Effects of the hot water extract of *Cordyceps militaris* fruiting bodies (CMWE) on tyrosinase activity. Tyrosinase was mixed with 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/ml of CMWE and incubated with 300 µM L-tyrosine (A) or 800 µM L-DOPA (B) for 15 min at 37°C. Three independent assays were performed in triplicate and the data shown are the mean ±S.D. *P<0.05 vs. media alone (control); significance of difference between treated groups by ANOVA followed by Dunnett's test.

억제하였으며, 최고농도인 5000 µg/ml에서는 약 40% 억제 효능을 나타내었다(Fig. 4B). 양성대조군으로 사용한 비타민 C는 5000 µg/ml에서 약 99% 활성을 억제하였다.

고 찰

멜라닌의 생합성은 주로 타이로시나아제의 작용에 의해 이루어지며 타이로시나아제에 의해 생성이 촉진되는 동물 멜라닌은 페오멜라닌(yellow and red melanin)과 유멜라닌(brown and black melanin)으로 구분된다(Raper, 1928; Kobayashi *et al.*, 1995; Mason, 1948; Olivares *et al.*, 2001). 타이로시나아제는 타이로신을 디하이드록시페닐알라닌 DOPA, DOPA 퀴논으로 전환시키는 초기 반응 단계와 유멜라닌 형성 단계의 반응을 촉매하며(Parvez *et al.*, 2006), 하이드로퀴논, 코지산, 알부틴과 같은 타이로시나아제와 유사한 단백질 (Tyrosinase related protein, TRP)은 타이로시나아제를 안정화시키는 기능을 하는 것으로 알려져 있기 때문에 타이로시나아제는 유멜라닌 형성에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어져 있다(Terasaka 등, 2000; Cabanes 등, 1994; Sugimoto 등, 2004, Fig. 5). 본 연구에서도 밀리타리스 동충하초 열수추출물은 농도의존적으로 유의성 있는 타이로시나아제의 활성저해, 최고농도인 5000 µg/ml에서의 약 71% 억제 효능을 나타내었고, 또한 L-DOPA를 기질로 했을 때 약 40%의 산화억제능을 나타내는 것으로 보아 멜라닌생성 초기단계의 타이로시나아제의 활성저해 결과로써의 타이로시나아제와 유

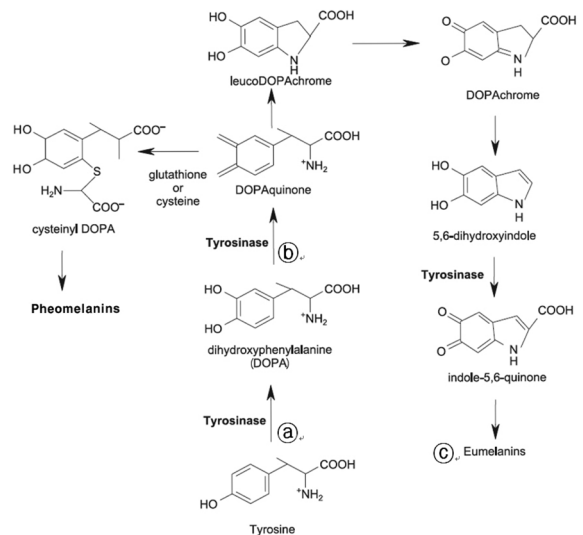


Fig. 5. The melanogenesis pathway. Structural formulas are abbreviated as follows: DOPA: L-3,4-dihydroxyphenylalanine; DOPAquinone: 4-(2-carboxy-2-aminoethyl)-1,2-benzoquinone; leucodopachrome: 2,3-dihydro-5,6-dihydroxyindole-2-carboxylate; DOPachrome: 2-carboxy-2,3-dihydroindole-5,6-quinone; DHICA: 5,6 dihydroxyindole-2-carboxylic acid; DHI: 5,6-dihydroxyindole ①: inhibition of tyrosinase activity, ②: inhibition of DOPA oxidation, ③: inhibition of melanin secretion.

사한 단백질 역할을 충분히 하고 있는 것으로 생각된다. 또한 최종 멜라닌 생성의 결과에서도 54%의 생성저해를 나타내었으며, 세포독성에서도 최고농도에서 생존율이 50%를 넘었다. 이는 현재 사용중인 미백원료에서의 문제인 세포물질대사의 가역적 저해와 세포독성으로 인한 유전자 변이, 그리고 불안정성 및 피부암 유발 등을 인체에 독성이 없는 천연물질로써 대체 가능한 안전성 확보의 측면에서의 의의가 크다고 하겠다. 이후 흡수율 및 세포투과성 능력까지 고려된다면, 천연물질로써 미백효능이 있는 기능성화장품 원료로 기대된다.

사 사

이 논문은 2006년도 정부재원(교육과학기술부 인문사회연구역량강화사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2006-005-J03503).

참고문헌

- Aburjai, T. and Natsheh, F. M. 2003. Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Res.* 17(9):987-1000.
- Agar, N. and Young, A. R. 2005. Melanogenesis : a photoprotective response to DNA damage. *Mutation Res.* 571(1):121-132.
- Bae, S. Y. and Keun, L. J. 1998. A bibliographical study on the origin of Chinese Caterpillar Fungus, *Kor. J. Herbology*, 13(2):181-187.
- Briganti, S., Camera, E. and Picardo, M. 2003. Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell Res.* 16(2):101-110.
- Cabanes, J., Chazarra, S. and Garcia-Carmona, F. 1994. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a show binding inhibitor of catechilase activity of tyrosinase. *J. Pharmacol.* 46(12):982-985.
- Choi, W. H., Ann, H. S., Choi, T. Y., Jin, S. Y. and Ahn, R.M. 2006. Effects of natura extracts on UVB-induced pigmentation and inflammation in C57BL/6 mouse skin. *Kor. J. Env. Health Sci.* 32(5):492-498.
- Hearing, V. J. and Jimenez, M. 1987. Mammalian tyrosinase-the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *Int. J. Biochem.* 19:1141.
- Hearing, V. J. and Jimenez, M. 1989. Analysis of mammalian pigmentation at the molecular level. *Pigment Cell Res.* 2:75.
- Jo, J. S. 1998. Study on the origin of Chinese caterpillar fungus. *J. East-West Medicines* 671-680.
- Kim, H. S., Roh, Y. J. and Choe, M. 2005. *Cordyceps militaris* increases hepatic glucokinase activities. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 34(2): 158-161.
- Kim, J. H., Cho, M. R., Ryu, C. R. and Chae, W. S. 2002. Effect of *Cordyceps militaris* mycelia(CMM) oral administration and herbal acupuncture at BL13, LU4 on asthma induced by ovalbumin in rats. *J. Kor. Acupuncture & Moxibustion Soc.* 19(2):39-50.
- Kim, M. N., Oh, S. W., Lee, D. S. and Ham, S. S. 2001. Antioxidative and antimutagenic effect of the ethal extract from *Cordyceps militaris*. *Kor. J. Postharvest Sci. Technol.* 8(1):109-117.
- Kim, S. J., Lim, D. K., Park, C. W., Cerbo, R. M., Hyung, S. W., Lee, K. K., Kim, J. O. and Ha, Y. L. 2004. Inhibition of free radical-induced lipid oxidation by the extract from submerged-liquid culture of mushrooms in the medium containing mulberry tree powders. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 33(2):255-261.
- Kobayashi, T., Vieira, W. D., Potterf, B., Sakai, C. and Imokawa, G. 1995. Modulation of melanogenic protein expression during the switch from eu-to pheomelanogenesis. *J. Cell Sci.* 108:2301-2309.
- Kobayashi, T., Imokawa, G., Bennett, D. C. and Hearing, V. J. 1998. Tyrosinase stabilization by Tyrpl(the brown locus protein). *J. Biol. Chem.* 273(48):3180-3185.
- Koh, J. B. and Choi M. A., 2001, Effect of *Cordyceps militaris* on lipid metabolism in rats fed cholesterol diet. *Kor. Nutri. Soc.* 34(3):265-270.
- Koh, J. B. 2002. The Effects of *Cordyceps militaris* on Lipid Metabolism, protein levels and enzyme activities in rats fed a high fat diet. *Kor. Nutri. Soc.* 35(4):414-420.
- Kwon, S. H., Woo, H. J., Han, D. S. and Kim, M. K. 2001. Effect of dried powders and water extracts of paecilomyces tenuipes and cordyceps militaris on lipid metabolism, antioxidative capacity and immune status in rats. *Kor. Nutri. Soc.* 34(3):271-284.
- Lee, E. H., Lee, J. K., Hong, J. T., Jung, K. M., Kim, Y. K., Lee, S. E., Chung, S. Y. and Lee, Y. W. 2001. Protective effect green tea extract catechin on UVB induced skin damage. *J. Food Hygiene and Safety* 16(2):117-124.
- Lee, H. M., Lee, Y. J. and Park, T. S. 2004. Tumor growth inhibitory and immunomodulatory activities of *Cordyceps militaris* water extracts in icr mice bearing sarcoma-180 solid tumor. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 33(1):59-65.
- Lee, J. D. 1998. Mycology 3rd edition, *Gu-duck publishing company.*
- Lee, S. H., Ko, S. S., Youn, Y. J. and Lee, J. I. 2002. Effect of *Cordyceps militaris* on maximal aerobic power and recovery of fatigue. *JKSSPE* 6(2):187-193.
- Lim, H. W., Kwon, Y. M., Cho, S. M., Kim, J. H., Yoon G. H., Lee, S. J., Kim H. W. and Lee, M. W. 2004. Antitumor activity of *Cordyceps militaris* on human cancer cell line. *Kor. J. Pharmacogn* 35(4):364-367.
- Mason, H. S. 1948. The chemistry of melanin. III. Mechanism of the oxidation of trihydroxyphenylalanine by tyrosinase. *J. Biol. Chem.* 172:83-99.
- Maeda, K. and Fukuda, M. 1991. *In vitro* effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *J. Soc. Cosmetic Chemists* 42(6):361-368.
- Oh, S. W., Kim, S. H., Song, H. N. and Han, D. S. 2003. Comparative Chemical Composition of Four Kinds of Tochukaso. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 35(1):15-22.
- Olivares, C., Jimenez-Cervantes, C., Lozano, J. A., Solano, F. and Garcia-Borron, J. C. 2001. The 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) oxidase activity of human tyrosinase. *Biochem. J.* 354: 131-139.
- Park, C. S., Kwon, C. J., Choi, M. A., Park, G. S. and Choi, K. H. 2002. Antibacterial activities of Cordyceps spp., Mugwort and Pine needle Extracts. *Kor. J. Food Preservation* 9(1):109-113.
- Park, S. N. 1997. Skin aging and oxygen species. *J. Cosmetic Sci.* 23(1):75-132.
- Parvez, S., Kang, M. K., Chung, H. S., Cho, C. W., Hong, M. C., Shin, M. K. and Bae, H. S. 2006. Survey and mechanism of skin depigmenting and lightening agents. *Phytother Res.* 10:1002
- Raper, H. S. 1928. The anaerobic oxidases. *Physiol. Rev.* 8:245-282.
- Sugimoto, K., Nishhura, T., Nomura, K. and Kuriki, T. 2004. Inhibitory effects of alpha arbutin on melanin synthesis in cultured human melanoma cells and a three-dimensional human skin model. *Biol & Pharmaceutical Bulletin* 27(4):510-514.
- Terasaka, H., Takayama, F., Satoh, K., Fujisawa, S. and Sakagami, H. 2000. Effect of antioxidants on radical intensity and cytotoxicity of hydroquinone. *Anticancer Res.* 20(5):3357-3362.