

B16 Melanoma Cell에서 티로시나아제 유전자 발현에 황금(*Scutellaria baicalensis*) 추출물이 미치는 효과

조남철 · 배석* · †진종언**

동강대학 호텔조리영양계열, *전남대학교 생물학과, **동강대학 피부미용계열

Effects of *Scutellaria baicalensis* Extracts on Tyrosinase Gene Expression in B16 Melanoma Cells

Nam-Chul Cho, Suk Bai* and †Jong-Eon Chin**

Dept. of Hotel Culinary Arts & Nutrition, Dongkang College, Gwangju 500-714, Korea

*Dept. of Biological Sciences, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

**Dept. of Cosmetology, Dongkang College, Gwangju 500-714, Korea

Abstract

To estimate the regulatory effects of *Scutellaria baicalensis* extracts on melanin biosynthesis, we evaluated the regulatory effects of the tyrosinase gene on B16 melanoma cells. The results revealed that methanolic extracts of *Scutellaria baicalensis* resulted in a high increase in the expression of the tyrosinase gene. Specifically, treatment with extracts at concentrations of 10 $\mu\text{g/ml}$ and 100 $\mu\text{g/ml}$ resulted in increases in tyrosinase gene expression rates of approximately 231% and 256%, respectively, when compared to the control. Moreover, the solvent fraction layers(methylene chloride, ethyl acetate, butyl alcohol, water) improved the expression of the tyrosinase gene, but to a lesser degree than the methanolic extracts. An MTT assay revealed, that the methanolic extract exhibited very low cytotoxicities at 10 $\mu\text{g/ml}$ and 100 $\mu\text{g/ml}$. Taken together, the results of this study indicated that the methanolic extracts of *Scutellaria baicalensis* was a very effective positive regulator of tyrosinase gene expression.

Key words: melanin, *Scutellaria baicalensis*, B16 melanoma cells, tyrosinase gene expression, MTT assay.

서 론

황금은 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 다년생 초본식물 속썩은 풀(*Scutellaria baicalensis*)의 껍질을 벗긴 뿌리를 일컫는 것으로서 우리나라, 중국, 몽골, 시베리아 동부 지역에 분포하고 있으며, 옛날부터 해열, 진통, 지사, 두통, 위염, 장염 등을 치료하기 위한 한약제로서 널리 이용되어 왔다(Shin 등 2008). 최근, 황금에는 baicalin, baicalein, wogonin 등이 플라보노이드 성분들이 다량으로 함유되어 있어 항산화 효과(Kim 등 2006)를 비롯하여, 항균(Bae 등 2005), 항바이러스(Chu 등 2007), 항암(Himeji 등 2007; Wang 등 2010), 항당뇨(Wasiundara 등 2008), 면역(Baumann 등 2008), 신경세포 보호(Yune 등 2009), 진경

(Park 등 2007), 항알러지(Kim 등 2009), 위점막 보호(Park 등 2004), 간세포 보호(Ye 등 2009), 항고지혈증(Ro 등 1996) 등 다양한 약리 효과가 있어 각종 성인병 및 질환의 예방 및 치료 효과가 있는 것으로 알려지고 있다. 또한 황금은 멜라닌 색소의 생합성에 관여하는 티로시나아제 효소의 활성을 저해하는 효과가 있는 것으로도 보고되고 있어 그의 산업적인 가치는 매우 크다고 할 수 있다(Lee 등 1997; Park 등 1997; Seo 2001; Choi 등 2007).

멜라닌 색소는 기미·주근깨와 같은 색소 침착의 원인이 되기도 하지만 피부나 모발의 색을 결정하는 동시에 유해한 자외선으로부터 인체를 보호하는 하는 역할을 담당하기 때문에 피부 건강학적인 측면 또는 미용학적인 측면에서 매우

† Corresponding author: Jong-Eon Chin, Dept. of Cosmetology, Dongkang College University, 160, Dongmun-ro, Bukgu, Gwangju 500-714, Korea, Tel: +82-62-520-2348, Fax: +82-62-520-2509, E-mail: jechin@naver.com

중요하다. 이 색소의 생합성은 티로시나아제(tyrosinase), DHICA oxidase, DOPA chrome tautomerase, catechol-O-methyltransferase 등의 주요 효소들에 의하여 정교하게 조절되고 있는 것으로 알려져 있으며(Aroca 등 1993; Paval 1993; Jimenez-Cervantes 등 1994), 특히 티로시나아제는 멜라닌 색소의 생합성 초기반응을 조절하는 주요 효소이다. 지금까지 티로시나아제 효소에 의한 멜라닌 색소의 생합성 조절에 관한 연구는 산업적으로 고부가가치가 높은 미백물질을 개발할 목적으로 주로 효소의 활성을 저해하는 연구가 주류를 이루며 활발하게 이루어져 왔으며, 그 결과 티로시나아제 효소의 반응을 억제 조절하는 천연물질들이 많이 개발되어(Shin 등 1998; Yokota 등 1998; Kubo & Ikuyo 1999; Lee 등 2002) 미백물질로서 이용되고 있지만 이들 대부분은 효소의 활성을 조절하는 수준에서 이루어져 멜라닌 색소의 생합성을 조절하는 효과가 낮을 뿐만 아니라 지속성이 짧다는 단점을 지니고 있다. 따라서 멜라닌 색소의 생합성 조절 효과가 높으면서도 지속력이 우수한 물질을 개발하기 위해서는 멜라닌 색소 생성과 관련된 유전자의 발현 조절 기작, 멜라닌 색소의 생성 활성을 제어하는 사이토카인 네트워크, 멜라닌 색소의 생합성에 관여하는 효소의 유전자 발현을 조절하는 물질 탐색 및 분리 수준에서의 연구들이 필수적이다. 그러나, 이들 연구들 중에서도 멜라닌 색소 생합성과 관련된 효소의 유전자 발현을 억제하는 천연물질에 관한 연구결과는 아직까지도 Chin 등(2000; 2005; 2007; 2008)과 Cho 등(2001), Lee 등(2005)의 소수의 보고를 제외하고는 거의 없다. 특히, 최근 멜라닌 색소는 미백효과로서 뿐만 아니라 티로시나아제 효소의 결핍에 의한 백반증을 치료를 목적으로 그의 관심이 날로 증가하고 있다. 따라서 멜라닌 색소의 생합성 근본적으로 조절하면서도 지속성이 우수한 천연물질을 개발하는 연구는 매우 시급하다.

본 연구는 유전자 발현 조절 수준에서 멜라닌 색소의 생합성을 조절하는 물질을 탐색하고자 티로시나아제 효소의 활성 저해 효과를 비롯하여 다양한 약리 효과를 지닌 황금으로부터 물질을 추출·분획하여 이들을 사람의 티로시나아제 프로모터 부위가 삽입되어 형질전환된 B16 melanoma cell에 처리하여 티로시나아제 유전자의 발현에 미치는 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용한 황금은 2008년 국내산으로 광주 시내 건재상에서 구입하여 감정한 후 사용하였으며, 표준품은 동강대학 향장품 연구실에 보관하였다.

2. 추출 및 분획

시료의 추출은 건조된 생약을 깨끗한 물로 씻어 이물질 제거한 다음 세절하였다. 세절된 황금 0.1 kg을 취한 다음 메탄올을 첨가하여 실온에서 1주일 동안 정치시킨 후 추출·여과하는 방법을 3회 반복하였다. 그리고, 그 여과액은 감압농축하여 동결 건조를 시키는 방법으로 분말화하였다. 용매분획은 분말화된 메탄올 추출물을 증류수로 현탁한 다음, 극성도가 서로 다른 methylene chloride(dichloromethane), ethyl acetate, butyl alcohol, 물 등을 이용하여 4 개의 층으로 분획하였다. 그 후 분획물들은 메탄올 추출물과 동일한 방법을 통해 분말화하였다.

3. 시료 제조

분말로 된 황금 추출물 및 분획물 100 mg에 ethyl alcohol과 dimethylsulfoxide(DMSO)가 1:1로 혼합된 용매 1 ml씩을 가하여 완전히 용해시킨 후 여과한 다음 본 실험에 이용하였다.

4. 세포 배양 및 유지

B16 melanoma cell(ATCC CRL 6323)는 10%(w/v)의 fetal bovine serum(FBS, GibcoBRL), 1%(w/v) antibiotic(Gibco BRL), 그리고 2 mM의 L-glutamine이 포함된 RPMI Medium 1640(Gibco BRL)에서 CO₂ 분압을 5%로 조절하여 37°C에서 배양하였으며, 세포는 36~48시간 주기로 계대배양하여 유지하였다.

티로시나아제 프로모터를 도입하여 형질전환된 B16 melanoma cell은 위의 RPMI Medium 1640 완전배지에 neomycin analogue인 Geneticin 418(200 µg/ml)을 가한 선택배지를 이용하여 유지하였다.

5. 세포내 유전자 도입(Stable Transfection)

B16 melanoma cell 내에 티로시나아제 프로모터가 삽입된 유전자를 도입하기 위해 LipofectAMINE(Life Technologies Inc.)을 이용한 다음과 같은 방법으로 stable transfection을 실시하였다.

1) 세포내 유전자 도입

B16 melanoma cell을 RPMI Medium 1640 평판배지에 세포수가 3~4×10⁵이 되도록 접종한 후 24시간 배양한 다음, 배양액 1 ml에 6 µl LipofectAMINE과 2 µg의 total plasmid DNA를 5시간 처리함으로써 형질전환을 실시하였다.

Plasmid DNA는 luciferase gene을 지닌 pGL2-basic vector(Promega)의 *Sma*I site에 1.5 kb의 neomycin 저항성 유전자를 삽입한 다음 1 kb의 사람 티로시나아제 프로모터를 *Eco*RI/*Kpn*I site에 클로닝을 하였다.

2) 형질전환된 세포의 선별

Stable transfection 처리 5시간 후 B16 melanoma cell로부터 LipofectAMINE 시약과 재조합된 DNA가 함유된 배지를 제거한 후 콜로니가 형성될 때까지 neomycin analogue인 Geneticin 418(600 $\mu\text{g}/\text{ml}$)이 들어있는 선택배지에서 배양한 후 형질전환된 B16 mouse melanoma cell을 선별하였다.

6. Luciferase 활성도 측정

세포내 유전자 도입을 통해 얻은 B16 melanoma cell의 형질전환 유무를 확인하기 위하여 luciferase 활성도를 측정하였다. 형질전환을 통하여 얻은 콜로니들을 trypsin-EDTA를 처리하여 떼어낸 후 24-well plates에 세포수가 well당 6×10^4 되게 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 그 후 세포들은 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4)으로 세척한 다음 1% Triton X-100, 2 mM EDTA, 그리고 2 mM dithiothreitol이 함유되어 있는 pH 7.8의 25 mM Tris-phosphate 완충용액으로 용해하였다. 용해된 세포들을 취하여 원심분리한 다음 얻어진 상등액에 대해 Luminometer(Lumat LB 9507, Berthold)를 이용하여 luciferase 활성도를 측정하였으며, luciferase 활성도가 가장 높게 나타난 B16 melanoma cell을 선별하여 이용하였다.

7. 티로시나아제 유전자 발현율 측정

형질전환된 B16 melanoma cell을 RPMI Medium 1640 완전배지가 들어 있는 24 well plate에 세포수가 well당 6×10^4 되게 접종한 다음 24시간 동안 전배양하였다. 그 후 각각의 well에 황금 메탄올 추출물은 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로, 용매 분획물들을 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 6 시간 동안 처리한 다음 luciferase 활성도를 측정하여 티로시나아제 유전자의 발현에 미치는 효과를 조사하였다.

8. 세포 독성 측정

B16 melanoma cell을 RPMI Medium 1640 완전배지가 들어 있는 96-well plates에 세포수가 well당 $1 \sim 1.2 \times 10^4$ 되게 접종한 다음 24시간 동안 배양하였다. 그 후 황금 메탄올 추출물을 각각의 well에 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 6시간 동안 처리한 다음 Mosmann TJ(1983)의 방법에 따라 ELISA(Bio-Tek Inc.) 570 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 독성을 평가하였다.

결과 및 고찰

1. 추출물 및 분획물의 양

황금으로부터 유용성 성분들을 얻기 위하여 메탄올을 첨가한 다음 실온에서 1주일 동안 정치시키는 조건하에서 추출

및 농축을 3회 반복한 다음 분말로 제조한 결과 13.5 g의 물질을 얻었다. 또한 이 메탄올 추출물을 극성도가 서로 다른 methylene chloride, ethyl acetate, butyl alcohol, 물 등의 4가지 용매를 이용하여 분획·농축한 결과 각각 약 2.3, 1.8, 2.4, 4.6 g의 분획물을 얻었다.

2. 추출물 및 분획물의 티로시나아제 유전자 발현율

황금의 메탄올 추출물을 티로시나아제 프로모터 유전자가 도입된 B16 melanoma cell에 처리한 결과 티로시나아제 유전자의 발현율은 추출물의 처리 농도에 따라 다르게 나타났다(Fig. 1).

즉, 황금 메탄올 추출물을 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하였을 때에는 티로시나아제 유전자의 발현율이 약 231%와 256%로 대조군 세포에 비해 크게 증진되었으나, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 고농도로 처리하였을 때에는 발현율이 각각 약 50%와 6%로 크게 억제하는 효과를 보여 주었다. 특히 황금 메탄올 추출물을 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 형질전환된 세포에 처리하였을 때에는 어성초 methylene chloride 용매 분획물을 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하였을 때처럼 광학현미경상에서 매우 심하게 세포가 고사되는 현상이 관찰되었다(Chin & Cho 2005). 그리고 Park 등(1997)에 의해 티로시나아제 효소의 활성을 50% 이상 저해시키는 농도(4.36 mg/ml)에서도 역시 세포가 심하게 고사되어 유전자 발현율을 측정할 수가 없었다. 따라서 황금 메탄올 추출물은 티로시나아제 유전자의 발현을 증진시키는 효과를 지닌 천연물질로 판단된다. 그리고 고농도로 처리하였을 때 나타난 티로시나아제 유전자 발현

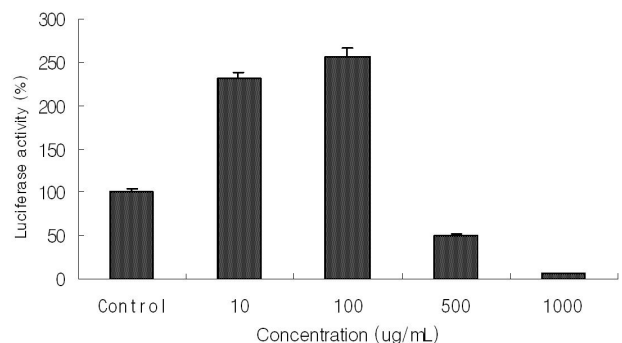


Fig. 1. Effects of *Scutellaria baicalensis* extract on the tyrosinase gene in B16 melanoma cells. Transfected B16 melanoma cells were incubated in RPMI 1640 medium for 24 hr and treated *Scutellaria baicalensis* extract for 6 hr. Then, the cells were solubilized with lysis buffer and centrifuged at 13,000 \times g for 2~3 min. The supernatants were used for luciferase assay. Values are the means of results from triplicate experiments.

억제 효과는 세포 독성과 관련이 있는 것으로 추측되어진다. 본 연구에서 황금 메탄올 추출물이 티로시나아제 유전자 발현에 미치는 효과는 종전에 보고된 빈랑(Chin & Cho 2007), 양파(Cho 등 2001), 어성초(Chin & Cho 2005), 지치(Lee 등 2005) 등의 메탄올 추출물들과는 다른 경향을 보여 주었다. 그러나 대두 메탄올 추출물(Chin & Kim 29)과 유사한 결과를 나타내었으며, 그의 티로시나아제 유전자의 발현 증진 효과는 대두 메탄올 추출물의 효과보다 우수하였다.

극성이 서로 다른 methylene chloride, ethyl acetate, butyl alcohol, 물 등 4종류의 용매로 황금 메탄올 추출물을 분획하여 얻은 물질들을 형질전환된 B16 melanoma cell에 처리한 결과 그 효과는 용매 분획물 및 그의 처리농도에 따라 다른 결과를 보여 주었다(Table 1).

비극성도가 높은 methylene chloride와 ethyl acetate 용매 분획물들은 10 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 형질전환된 세포에 처리하였을 때 티로시나아제 유전자의 발현율이 각각 약 192%와 190%로 메탄올 추출물보다는 낮았지만 티로시나아제 유전자를 크게 증진시키는 효과를 보여 주었다. 그러나 그 용매 분획물들을 그 이상의 농도로 처리하였을 때에는 황금 메탄올 추출물을 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하였을 때와 같이 세포 독성이 심하여 티로시나아제 유전자의 발현율이 대조군 세포에 비해 현저하게 감소하거나 측정이 불가능하였다. Butyl alcohol 용매 분획물을 형질전환된 세포에 처리하였을 때에도 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 티로시나아제 유전자 발현율이 각각 약 147%와 154%로 증진되었으며, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 그의 유전자 발현율이 약 51%로서 억제하는 효과를 나타내었다. 한편, 물 용매 분획물은 다른 용매 분획물들과 달리 형질전환된 세포에 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하였을 때 티로시나아제 유전자의 발현율이 대조군 세포와

유사하였으나, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 고농도로 처리하였을 때에는 티로시나아제 발현율이 오히려 132%로 methylene chloride, ethyl acetate, butyl alcohol 용매 분획물들과는 다른 결과를 보여 주었다.

본 연구결과를 통해서 황금 메탄올 추출물은 멜라닌 색소 생합성 관련 효소인 티로시나아제 유전자의 발현을 억제하기 보다는 증진시키는 효과가 있다는 것이 입증되었다. 따라서 황금을 멜라닌 색소의 생합성 조절에 응용하기 위해서는 억제보다는 촉진시키는 목적으로, 용매 분획물 형태로 보다는 추출물 형태로 이용하는 것이 보다 효율적이라 판단된다.

3. 추출물의 세포 독성

B16 melanoma cell에 티로시나아제 유전자의 발현에 영향을 미치는 황금 메탄올 추출물을 처리하여 MTT assay를 실시한 결과, 추출물의 처리 농도에 따라 세포의 활성능이 다르게 나타났다(Fig. 2).

즉, 황금 메탄올 추출물은 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하였을 때에는 세포의 활성능이 대조군 세포와 유사한 결과를 보여주어 세포 독성이 매우 낮은 것으로 확인되었다. 그러나, 500 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도로 처리하였을 때에는 세포의 활성능이 낮게 나타났으며, 특히 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 세포 독성이 심하여 세포의 활성능 측정이 불가능하였다. 이 결과를 통해서 황금 메탄올 추출물의 500 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 고농도에서 티로시나아제 유전자 발현 억제 효과는 세포 독성과

Table 1. Effects of solvent fraction layer from *Scutellaria baicalensis* on the tyrosinase gene in B16 melanoma cells

Solvent fraction layer	Luciferase assay(%)		
	10 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	500 $\mu\text{g/ml}$
Methylene chloride	192 \pm 10.7	29 \pm 3.9	ND ¹⁾
Ethyl acetate	190 \pm 9.0	24 \pm 5.0	ND ¹⁾
Butyl alcohol	147 \pm 10.5	154 \pm 10.9	51 \pm 9.1
Water	98 \pm 3.9	118 \pm 8.3	132 \pm 4.3

¹⁾ ND: Not determined. Values are the means of results from triplicate experiments. * Transfected B16 melanoma cells were incubated with 6×10^4 in RPMI 1640 medium for 24 hr and treated solvent fractions of *Scutellaria baicalensis* for 6 hr. Then, the cells were solubilized with lysis buffer and centrifuged at $13,000 \times g$ for 2~3 min. The supernatants were used for luciferase assay.

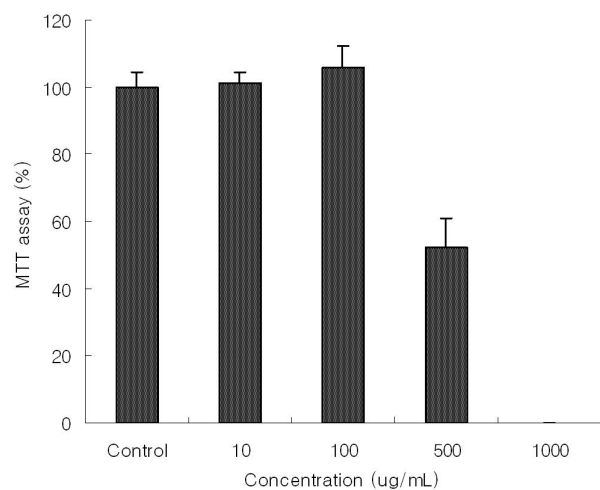


Fig. 2. Cytotoxicity of *Scutellaria baicalensis* extracts on B16 melanoma cells. B16 melanoma cells were incubated with $1.0 \sim 1.2 \times 10^4$ in RPMI 1640 medium for 24 hr and treated with *Scutellaria baicalensis* extract for 6 hr. Then, the cells were used for MTT assay. Values are the means of results from triplicate experiments.

밀접한 관련이 있는 것이 입증되었다. 따라서 황금 메탄올 추출물을 티로시나아제 유전자의 발현을 조절하는 물질로 사용하기 위해서는 세포 독성을 고려하여 100 $\mu\text{g/ml}$ 이하의 저농도로 이용하는 것이 바람직하며, 실제로 황금 추출물이 산업적으로 응용되기 위해서는 B16 melanoma cell 뿐만 아니라 사람의 멜라닌 생성 세포(melanocyte)의 세포 독성에 미치는 영향에 대한 연구가 보다 필요하다.

요 약

유전자 발현 조절 수준에서 멜라닌 색소의 생합성을 조절하는 천연물질을 탐색하고자 황금으로부터 유용성 물질을 추출 및 분획하여 티로시나아제 프로모터 부위를 도입하여 형질전환된 B16 melanoma cell에 처리한 결과, 그 메탄올 추출물의 티로시나아제 유전자 발현율은 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 대조군 세포에 비해 각각 약 231과 256%로 매우 크게 증진하는 효과를 보여 주었다. 극성도가 서로 다른 용매 분획물들을 형질전환된 세포에 처리하였을 때 methylene chloride와 ethyl acetate 용매 분획물들은 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서, butyl alcohol 용매 분획물은 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서, 그리고 물 용매 분획물은 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 고농도에서 티로시나아제 유전자의 발현을 증진시키는 효과를 보여 주었다. 그러나 그들의 티로시나아제 발현 증진 효과는 메탄올 추출물보다 낮았다. 황금 메탄올 추출물을 B16 melanoma cell에 처리한 다음 MTT assay를 실시한 결과, 10 $\mu\text{g/ml}$ 와 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 대조군 세포와 세포활성능이 유사할 정도로 세포 독성이 매우 낮게 나타났다. 그러나 그 이상의 농도에서는 세포 활성능이 현저하게 낮았으며, 특히 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 세포 독성이 심하여 세포의 활성능을 측정하는 것이 불가능하였다. 본 연구결과, 황금 메탄올 추출물 내에는 티로시나아제 유전자의 발현을 증진시키는 데에 관여하는 성분들이 함유되어 있는 것으로 추측된다. 따라서 황금 추출물은 멜라닌 색소의 생합성에 관여하는 유전자의 발현하는 증진시키는 목적으로 이용함이 바람직하며, 이를 산업적으로 응용하기 위해서는 앞으로도 보다 많은 연구가 필요하다.

참고문헌

- Aroca P, Urabe K, Kobayashi K, Taskamoto K, Hearing VJ. 1993. Melanin biosynthesis patterns of following hormonal stimulation. *J Biol Chem* 268:25650-25655
- Bae JH, Lee MJ, Lee SM. 2005. Antimicrobial effect of *Cutellariae baicalensis* Georgi extracts on food-borne pathogens. *Korean J Microbiol Biotechnol* 33:35-40
- Baumann S, Fas SC, Giaisi M, Müller WW, Merling A, Gülow K, Edler L, Krammer PH, Li-Weber M. 2008. Wogonin preferentially kills malignant lymphocyte and suppresses T-cell tumor growth by inducing PLCgamma1- and Ca^{2+} -dependent apoptosis. *Blood* 111:2354-2363
- Chin JE, Cho NC. 2005. Effect of *Houttuynia cordata* extracts on tyrosinase gene expression. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34:1284-1288
- Chin JE, Cho NC. 2007. The effects of *Area catechu* extracts on tyrosinase gene expression in B16 mouse melanoma cells. *Korean J Food & Nutr* 20:240-244
- Chin JE, Sun HS, Lee KJ, Choi TJ, Ko YS, Sohn HJ, Kim JJ, Jeon BH, Lee BH. 2000. Inhibitory effects of some medicinal plant extracts on the tyrosinase promoter activity on B16 mouse melanoma cells. *International J Oriental Medicine* 1:6-13
- Chin JE, Kim KC. 2008. Effects of *Glycine maxim* extracts on the activity of tyrosinase promoter. *Korean J Food & Nutr* 21:386-390
- Cho NC, Yoon YH, Lee HJ, Shon HJ, Kim YK, Choi KH, Ra MS, Cho YK, Lee BH, Chin JE. 2001. Effect of onion (*Allium cepa* L.) extract on tyrosinase gene expression. *Korean J Food & Nutr* 14:228-232
- Choi MR, Lee JS, Lim HS. 2007. Change in physiological activities of *Scutellariae baicalensis* by heating. *J Life Science* 17:1381-1386
- Chu ZY, Chu M, Teng Y. 2007. Effect of baicalin on *in vivo* anti-virus. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 32:2413-2415
- Himeji M, Ohtsuki T, Fukazawa M, Tanaka M, Yazaki S, Nishio K, Yamamoto H, Tasaka K, Mimura A. 2007. Difference of growth-inhibitory effect of *Scutellariae baicalensis*-producing flavonoid wogonin among human cancer cells and normal diploid cell. *Cancer Lett* 245:269-274
- Jimenez-Cervantes C, Solano F, Kobayashi T, Urabe K, Hearing VJ, Lozano J, Garcia-Borron C. 1994. A new enzymatic function in the melanogenic pathway. *J Biol Chem* 269:17993-18001
- Kim SC, Ahn KS, Park CK, Jeon BS, Lee JT, Park WJ. 2006. Isolation of antioxidative compound from *Scutellariae baicalensis*. *Korean J Medicinal Corp Sci* 14:212-216
- Kim SH, Kim HJ, Jung JY. 2009. Effects of baicalein on picryl chloride-induced contact dermatitis in BALAB/c mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:160-165
- Kubo I, Ikuyo KH. 1999. 2-Hydroxy-4-methoxy-benzaldehyde a potent tyrosinase inhibitor from African medicinal plants.

- Planta Medica* 65:19-22
- Lee HB, Bai S, Chin JE. 2005. Inhibitory effect of *Lithospermum erythrorhizon* extracts on melanin biosynthesis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34:1325-1329
- Lee SH, Park JS, Kim SY, Kim JJ, Chung SR. 1997. The screening of the inhibitory compounds on tyrosinase activity from the natural product. *Yakhak Hoeji* 41:456-461
- Lee SH, Choi SY, Kim HC, Hwang JS, Lee BG, Gao JJ, Kim SY. 2002. Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis. *Biol Pharm Bull* 25:1045-1048
- Mosmann TJ. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assay. *Immunol Methods* 63:55-63
- Park HG, Yoon SY, Choi JY, Lee GS, Choi JH, Shin CY, Son KH, Lee YS, Kim WK, Ryu JH, Cheong JH. 2007. Anti-convulsant effect of wogonin isolated from *Scutellariae baicalensis*. *Eur J Pharmacol* 574:112-119
- Park JH, Shin YG, Shin UK, Baek SK, Lee SK, Chung MH, Park YI. 1997. Tyrosinase inhibition activity of some herbal drugs. *Yakhak Hoeji* 41:518-523
- Park S, Hahm KB, Oh TY, Jin JH, Choue R. 2004. Preventive effect of flavonoid, wogonin, against ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *Dig Dis Sci* 49:384-394
- Paval S. 1993. Dynamics of melanogenesis intermediates. *J Invest Dermatol* 100:162S-165S
- Ro HS, Ko WK, Kim OJ, Park KK, Cho YW, Park H. 1996. Antihyperlipidemic activity of *Scutellariae baicalensis* Georg., *Coptidis japonica* Makino and *Rhei koreanum* Nakai on experimental hyperlipidemia in rats. *J Korean Pharm Sci* 26:215-219
- Seo SY. 2001. Screening of tyrosinase inhibitors from oriental herbs. *Korean J Plant Res* 14:32-37
- Shin JM, Park CK, Shin EJ, Jo TH, Hwang IK. 2008. Effects of *Scutellariae baicalensis* extract on osteoblast differentiation and osteoclast formation. *Korean J Food Sci Technol* 40:674-679
- Shin NH, Ryu SY, Choi EJ, Kang SH, Chang IM, Min KR, Kim YS. 1998. Oxyresveratrol as the potent inhibitor on the dopa oxidase activity of mushroom tyrosinase. *Biochem Biophys Res Commun* 243:801-803
- Wang CZ, Li XL, Wang QF, Mehendale SR, Yuan CS. 2010. Selective fraction of *Scutellariae baicalensis* and its chemopreventive effects on MCF-7 human breast cancer cells. *Phytomedicine* 17:63-68
- Wasiundara VY, Hsu A, Huang D, Tan BK. 2008. *Scutellariae baicalensis* enhances the anti-diabetic activity of metformin in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Am J Chin Med* 36:517-540
- Ye F, Che Y, McMillen E, Gorski J, Brodman D, Saw D, Jiang B, Zhang DY. 2009. The effect of *Scutellariae baicalensis* on the signaling network in hepatocellular carcinoma cells. *Nutr Cancer* 61:530-537
- Yokota T, Nishino H, Kubota Y, Mizoguchi M. 1998. The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. *Pigment Cell Res* 11:355-361
- Yune TY, Lee JY, Cui CM, Kim HC, Oh TH. 2009. Neuroprotective effect of *Scutellariae baicalensis* on spinal cord injury in rats. *J Neurochem* 110:1276-1287

(2010년 1월 2일 접수; 2010년 1월 29일 채택)