

선이질풀 추출물의 멜라닌 생성 억제 효과

김 현 수*
중원대학교 식품공학과

The Anti-melanogenic Effect of *Geranium krameri* Extract

Hyun-Soo Kim*

Department of Food science and Technology, Jungwon University

Abstract We investigated the application of functional materials by examining a variety of physiological activities of *Geranium krameri* extract obtained from the National Institute of Horticultural and Herbal Science. *Geranium krameri* extract had a low cytotoxicity against murine melanoma B16F10 cells. At concentrations with little or no cytotoxicity, *Geranium krameri* extract showed high DPPH radical scavenging activity (ID₅₀, 8.72 µg/mL) and anti-microbial activities against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans*. Additionally, *Geranium krameri* extract inhibited tyrosinase activity (ID₅₀, 456.86 µg/mL) and decreased melanin content (ID₅₀, 50.35 µg/mL). The treatment of B16F10 cells with *Geranium krameri* extract suppressed the protein expression of tyrosinase in a dose-dependent manner. These findings suggest that *Geranium krameri* extract inhibits melanin synthesis in murine melanoma B16F10 cells by suppressing intracellular tyrosinase expression, as well as directly inhibits tyrosinase activity simultaneously.

Keywords: *Geranium krameri*, melanin, tyrosinase

서 론

피부는 진피와 표피로 구성되어 있으며 이중 표피는 피부 최외각에 위치하며 각질형성세포로 구성된 각질층이 정상적으로 형성되고 유지됨으로써 외부의 다양한 물리적, 화학적 및 기계적 자극에 대한 방어와 체내 수분의 과도한 발산을 막는 보호기능을 한다. 또한 표피 최하층에서 지속적으로 증식하는 기저세포가 각질층으로 이동하는 동안 단계적으로 형태와 기능상의 변화를 거치며 형성된 각질형성세포는 일정기간이 지나면 피부에서 탈락되고, 표피 최하층으로부터 올라온 새로운 각질형성세포가 그 기능을 대신하는 표피분화 또는 각화의 과정을 반복하게 된다. 이러한 각질형성세포는 천연보습인자와 세라마이드(ceramide), 콜레스테롤과 지방산과 같은 세포 간 지방질을 형성하여 피부장벽으로서의 기능을 보유하게 된다(1).

이러한 중요한 피부장벽의 손상(건조피부, 민감성피부, 노인성 건성피부, 아토피피부)은 현대사회에서 증가하는 건조 환경 및 사회적 스트레스 등의 원인으로 악화되고 있으며 이를 개선하기 위한 천연소재 개발에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 특히, 하얀색 피부를 선호하는 여성들을 중심으로 미백효과를 볼 수 있는 소재개발에 대한 관심이 증가하고 있다(2). 피부색은 멜라닌 생성세포가 합성하는 멜라닌의 양과 종류에 따라 결정되며 자외

선과 같은 외부자극으로부터 피부를 보호하기 위해 멜라닌 생성을 하게 된다. 그러나 피부표면에 과도한 멜라닌 합성과 축적은 기미, 주근깨와 같은 과 색소 침착 증상이 나타나게 된다(3). 멜라닌 생성은 타이로시네이즈, 타이로시네이즈 연관 단백질-1(tyrosinase related protein-1, TRP-1), TRP-2 효소에 의해 조절되며 타이로시네이즈는 구리를 포함한 효소로서 멜라닌 형성에 중요한 역할을 하고 있다(4). 타이로시네이즈는 멜라노솜내에서 타이로신(tyrosine)을 산화시켜 dihydroxyphenylalanine (DOPA)을 생성하는 타이로신 하이드록시화 효소(tyrosine hydroxylase)로서, 또한, DOPA를 산화시켜 DOPA 퀴논(quinone)을 만드는 DOPA 산화효소(oxidase)로서 작용하여 멜라닌 중합체를 합성하는 핵심 효소로 작용한다(5). 따라서 멜라닌 생합성을 억제하여 미백효과를 가져올 수 있는 독성이 없는 천연소재 물질에 대한 개발이 요구되고 있다(6). 또한, 이와 같은 천연소재 물질은 기능성 식품 및 화장품에 응용하기 위해서는 변질 및 균의 증식을 방지하기 위한 천연항균 활성이 함께 필요하게 된다.

본 연구의 재료인 선이질풀(*Geranium krameri*)은 쥐손이풀속에 속하며 우리나라 각처 산이나 들에서 자라는 여러해살이풀로 선이질풀을 비롯해서 둥근이질풀, 쥐손이풀, 세잎쥐손이 등 10여종의 쥐손이풀속 식물이 자생하고 있다. 선이질풀은 털손이풀, 참이질풀이라고도 불리며 줄기는 밑 부분이 옆으로 기면서 자라다가 곧게 서며 잎자루와 더불어 밑을 향한 누운 털이 있다. 줄기가 곧게 서는 이질풀이라 하여 선이질풀이라 명명되었으며 전통적으로 사료용·약용으로 이용되어 왔다(7). 이와 같이 전통적으로 이용이 되어 왔음에도 불구하고 과학적으로 활성메커니즘에 대한 연구가 부족하며 특히, 미백활성 등 피부개선 효과를 비롯한 기능성 화장품소재에 활용하기 위한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 선이질풀 잎 추출시료를 가지고 산화방지 및 항균활성 시험을 비롯한 생리활성 시험을 실시하였으며 또한

*Corresponding author: Hyun-Soo Kim, Department of Food science and Technology, Jungwon University, Goesan-gun, Chungbuk 28024, Korea
Tel: 82-43-830-8616
Fax: 82-43-830-8679
E-mail: hyun1006@jwu.ac.kr
Received November 11, 2015; revised November 30, 2015; accepted December 4, 2015

미백시험을 비롯한 피부효능 개선 시험 및 멜라닌 생성 억제에 대한 메커니즘을 조사하여 기능성 화장품 소재로서의 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

선이질풀(*Geranium krameri*) 잎 추출물(시료번호: 4)은 국립원예특작과학원 인삼특작부 추출물은행(Jellabuk-do, Korea)에서 분양 받았으며, 시료 200 g에 70% 에탄올 1 L를 첨가하여 실온에서 2 일간 2회 추출하고 이를 여과, 감압농축, 냉동건조 하여 제조한 것이다.

세포독성평가

세포독성 시험은 세포내의 미토콘드리아 수소제거효소에 의해 수용테트라졸륨염(water soluble tetrazolium salts) (WST-1)이 불용성의 포마잔(formazan)결정으로 변환되는 원리를 이용하였고(8), 포마잔이 많이 생성될수록 세포 활성이 커지는 것을 의미한다. 포마잔은 다이메틸설폭사이드(dimethyl sulfoxide)에 녹아서 보라색 빛을 띄는데 분광광도계(spectrophotometer)로 540 nm 파장에서 OD값을 측정하여 정량하였다. 미국 세포주은행(ATCC, Manassas, VA, USA)에서 분양 받은 멜라노마 세포(murine melanoma B16F10)를 10% 소태아 혈청(fetal bovine serum: FBS, Gibco, Waltham, MA, USA)이 포함된 dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM)에서 배양하고 24 well plate에 2×10^4 cells/well의 농도로 세포를 접종한 후, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 이후 배양세포에 추출물을 농도별로 처리하고 72시간 배양하였다. 결과는 %로 환산하였다. 각 처리농도에서의 결과 수치로 50% 저해 농도(ID₅₀)을 계산하여 세포 독성 정도를 표현하였다.

항산화효과 측정

시료의 항산화효과는 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 라디칼에 대한 전자공여능(electron donating ability, EDA)으로 측정하였다(9). 즉, 0.2 mM의 DPPH용액 0.8 mL에 식물추출물 시료 0.2 mL를 첨가하여 혼합한 다음, 실온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 산화방지효과는 $[1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$ 의 계산식에 의해 전자공여능(%)으로 나타내었으며, 대조구는 시료 대신 메탄올을 첨가하였고, positive control로 아스코브산(ascorbic acid)를 사용하였다. 각 처리농도에서의 결과 수치로 50% 저해 농도(ID₅₀)을 계산하여 DPPH 소거 활성 정도를 표현하였다.

항균활성 측정

항균효과는 time-curve를 작성하여 확인하였다. 즉, 시간별로 항균작용이 어떤 변화를 보이는지 알아보기 위해 각각 균주 배양액에 선이질풀 추출물의 처리농도가 100 µg/mL 이 되도록 처리하여 일정 시간별로 배양액을 채취하였다. 채취한 배양액을 십진 희석법으로 희석하고 각각 균주평판배지에 접종하여 배양한 후, 생성되는 콜로니의 수를 측정하고 CFU/mL로 환산하였다.

타이로시네이즈 저해활성측정

멜라닌(Melanin) 합성 주요 단계에 관여하는 타이로시네이즈 저해활성 측정은 효소 작용 결과 형성되는 DL-β-3,4-dihydroxyphenyl alanine (DOPA) chrome을 비색법에 의해 측정하는 Masamoto 등

의 방법(10)을 변형하여 측정하였다. 기질로서 5 mM DL-DOPA 용액 0.2 mL, 0.1 M 인산완충용액(pH 6.8) 0.2 mL 및 시료용액 0.5 mL의 혼합액에 mushroom 타이로시네이즈(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 0.1 mL (2,000 unit/mL)을 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 475 nm 파장에서 흡광도를 측정하고 아래 식에 따라 타이로시네이즈 저해활성을 산출하였다. 각 처리농도에서의 결과 수치로 50% 저해 농도(ID₅₀)을 계산하여 타이로시네이즈 저해활성 정도를 표현하였다.

$$\text{타이로시네이즈 저해 활성 (\%)} = 1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

멜라닌 생성 저해 측정

멜라닌 정량은 Hosoi 등의 방법(11)을 변형하여 사용하였다. 즉 24 well plate에 2×10^4 cells/well로 멜라노마 세포를 분주하였고, 100 µM 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX)으로 멜라닌 생성을 유도한 후, 선이질풀 추출물시료를 처리하여 48시간 동안 37°C CO₂ 배양기에서 배양하였다. 세포를 수집하여 세포수를 측정하고, 1200 rpm에서 5분간 원심 분리하여 침전한 후, 1 mL 균질완충용액(homogenization buffer) (50 mM sodium phosphate pH 6.5, 1% Triton X-100, 2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride)로 용해시켰다. 여기서 얻은 pellet에 1 N NaOH (10% DMSO) 200 µL를 첨가하고 vortex 후 405 nm에서 흡광도값을 측정하였다. 추출물을 처리하지 않은 시료군을 대조군으로 하고 결과는 %로 환산하였다. 각 처리농도에서의 결과 수치로 50% 멜라닌 생성 저해 농도(ID₅₀)을 계산하여 멜라닌 생성 저해 활성을 표현하였다.

Western blot 분석

선이질풀 추출물에 의한 타이로시네이즈 단백질 발현을 분석하기 위하여 western blot을 시행하였다. 멜라노마 세포를 alpha-melanocyte stimulating hormone (α-MSH)첨가로 멜라닌 생성을 유도한 후, 상기 세포독성 실험에서 관찰된 추출물시료 농도로 처리하고 48시간 동안 37°C CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배양된 세포를 수확하여 PBS로 두 번 세척한 후, RIPA 완충용액(buffer)에서 용해시키고 ice에서 1시간 동안 정치시켰다. 처리된 세포 용해물을 4°C 15,000 rpm에서 20분간 원심분리하고, 획득한 상층액은 분석을 위해 -70°C에서 보관하였다. 단백질 농도는 단백질분석키트(protein assay kit) (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 각 20 µg 단백질량에 해당되는 시료를 10% SDS-PAGE에서 전기이동 하여 분리 한 후, 폴리비닐리덴 플루오린화물(polyvinylidene fluoride, PVDF) 막에 옮겨 주었다. 막을 상온에서 1시간 동안 blocking buffer (5% skim milk in TBST)에서 처리한 후 1차 항체(mouse anti-타이로시네이즈: 1:200, Abcam, Cambridge, UK)를 3시간 동안 상온에서 처리하였다. 이후 10분 간격으로 TBST로 5회 세척하고 2차 항체(rabbit anti-mouse IgG-HRP: 1:5000, Santa Cruz Biotechnology, Carlsbad, CA, USA)로 1시간 동안 반응시켰다. 이후 10분 간격으로 TBST로 5회 세척하고 enhanced chemiluminescence (ECL) western blotting detection kit (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA)로 검출하였다. 단백질밴드는 광이미지시스템(photo-image system) (Molecular Dynamics, Uppsala, Sweden)기기를 사용하여 정량하였다.

통계처리

모든 실험은 독립적으로 3회 반복 시행하고 실험결과는 평균

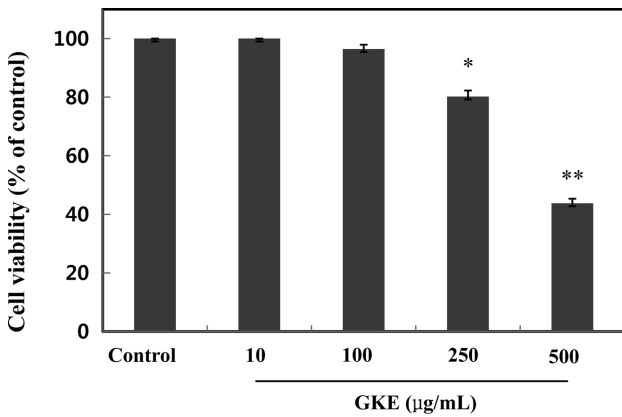


Fig. 1. Cytotoxic effects of *Geranium krameri* extract (GKE) on murine melanoma B16F10 cell. GKE-untreated group was used as a control. Values are presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant when * p <0.05, ** p <0.01. * p <0.05, ** p <0.01 compared to the control group.

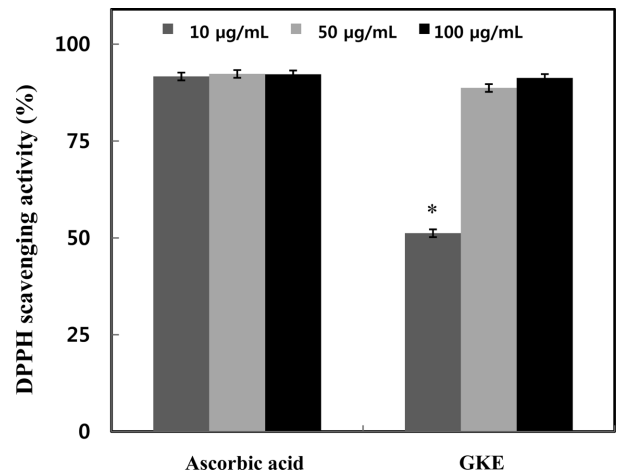


Fig. 2. DPPH radical scavenging effects of *Geranium krameri* extract (GKE). Ascorbic acid was used as a positive control. Values are presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant when * p <0.05. * p <0.05 compared to the ascorbic acid group with same concentration.

±표준평균오차로 표기하였으며, 통계적 유의성은 Student's t -test 로 검토하였으며 p 값이 0.05 미만일 때 유의하다고 판단하였다.

결과 및 고찰

선이질풀 추출물의 세포독성시험

멜라노마 세포에 선이질풀 에탄올 추출물 시료(시료번호:4, *Geranium krameri* extract: GKE) 10, 100, 250, 500 µg/mL의 농도로 처리한 후, WST-1 분석법(8)을 이용하여 세포독성을 측정하였다(Fig. 1). 대조군 대비하여 10, 100, 250, 500 µg/mL의 GKE 농도에서 각각 0, 3.58, 19.80, 56.24% 세포독성을 나타냈으며, 50% 세포독성을 나타내는 농도(ID₅₀)는 469.26 µg/mL로 나타났다. 따라서 이후의 실험은 독성이 거의 없는 100 µg/mL 이하의 농도에서 진행하였으며 멜라닌 생성 억제효과로서 보고된 해양 천연물 미역취 추출물(12)의 경우에도 세포독성이 거의 없는 농도가 100 µg/mL 이하인 것과 비교하였을 때 천연물시료로서 독성이 없는 안전한 물질로 판단된다.

선이질풀 추출물의 항산화 활성

선이질풀 추출물과 대조군 아스코브산에 대해서 DPPH 라디칼 소거 활성법(9)으로 항산화 활성을 측정하였다. 추출물 시료와 대조군 시료를 각각 10, 50, 100 µg/mL의 농도로 제조하여 DPPH

소거활성을 측정된 결과(Fig. 2), GKE 농도 10, 50 µg/mL 경우 51.20, 88.70%의 소거능 활성을 보였으며 따라서 추출물 시료의 농도가 증가할수록 라디칼 소거능이 증가하였다. GKE 각각에 대한 같은 시료농도 대조구인 아스코브산과 비교 하였을 때는 소거활성이 다소 낮았으나, 100 µg/mL의 추출물 농도에서는 대조구와 거의 같은 라디칼 소거활성을 보였다(91.30%). 또한, GKE의 경우, 50% 라디칼 소거활성 농도는 8.72 µg/mL 였으며 대조군 표준시료인 아스코브산의 경우는 5.65 µg/mL였다. 또한, 미백효과가 보고된 정공피(13) 및 대나무(14) 추출물의 경우, 100 µg/mL에서 각각 40, 50%의 소거활성을 보이는 것과 비교할 때, 산화방지 소재로서 더 우수한 선이질풀 추출물의 가능성을 확인할 수 있다.

선이질풀 추출물의 항균 활성

선이질풀 추출물에 대한 항균활성 측정을 위하여 추출물 시료를 최종농도가 100 µg/mL가 되도록 처리한 후, 시간별로 각각 시험균에 대한 time curve를 작성하였다(Fig. 3). 대조군의 경우 시간이 경과함에 따라 균의 증식에 변함이 없었으나 추출물 시료 처리 경우는 배양 12시간 경과 후, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* 각각 대조군에 대하여 46.15, 53.84,

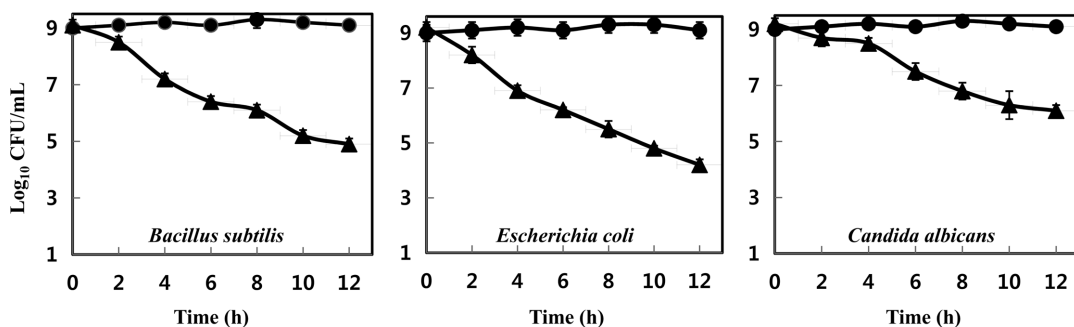


Fig. 3. Time-dependent effects of *Geranium krameri* (GKE) on growth of *B. subtilis*, *E. coli* and *C. albicans*. 10% DMSO was used as a negative control (●) and GKE was dissolved in 10% DMSO to a final concentration of 100 µg/mL (▲).

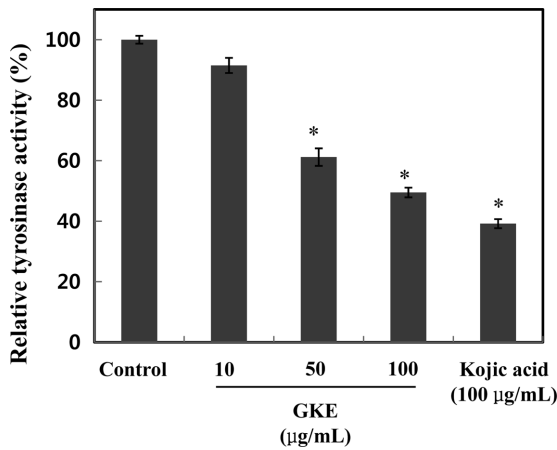


Fig. 4. Effects of *Geranium krameri* extract (GKE) on tyrosinase activity. The tyrosinase activity assay was performed with mushroom tyrosinase. Kojic acid was used as a positive control. GKE-untreated group was used as a control. Values are presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant when * $p < 0.05$. * $p < 0.05$ compared to the control group.

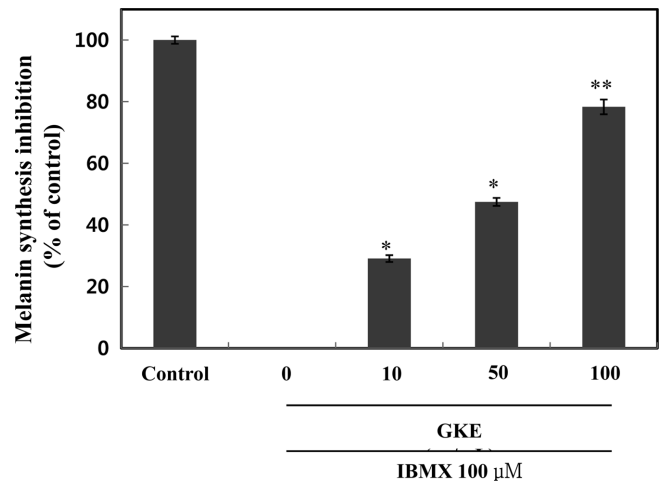


Fig. 5. Anti-melanogenic effects of *Geranium krameri* extract (GKE) in B16F10 cells. Cells were treated with 100 μM IBMX in presence or absence of GKE at the indicated concentration for 2 days. Untreated group (both GKE and IBMX) was used as a control. Values are presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant when * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared to the GKE-untreated group.

32.96%의 증식 억제가 확인되었다. 즉, 모든 시험군의 증식이 억제됨을 확인 할 수 있었다. 또한, 소라쟁이(15) 추출물의 경우 본 시험군들에 대하여 항균활성이 보고된 바와 같이 향후 화장품 소재 개발 시 유통기한 확보에 따른 천연방부제로서의 소재개발 가능성을 기대할 수 있을 것으로 생각한다(16).

선이질풀 추출물의 타이로시네이즈 저해활성

타이로시네이즈는 구리를 포함한 효소로서 멜라닌 형성에 중요한 역할을 한다. 이러한 멜라닌 중합체 생합성을 효과적으로 저해하기 위한 타이로시네이즈 저해활성을 측정하기 위하여 선이질풀 추출물에 대한 mushroom 유래의 타이로시네이즈 저해활성을 관찰하였다(Fig. 4). 추출물시료 10, 50, 100 μg/mL의 경우, 각각 8.50, 38.80, 50.50%의 타이로시네이즈 저해활성을 나타내었다. 한편, 미백활성의 표준시료로서 kojic acid 100 μg/mL의 경우 60.80%의 저해활성을 나타내었다. 또한, GKE의 경우, 50% 타이로시네이즈 저해활성 농도는 456.86 μg/mL였으며 대조군 표준시료인 kojic acid의 경우는 89.13 μg/mL였다. 선이질풀 추출물시료가 대조군 kojic acid와 비교했을 때 50% 저해활성 농도는 높게 나타났으나 다른 천연소재 중 우수한 미백활성 효과로서 보고된 바(17) 있는 선학초 추출물 100 μg/mL에서 26.0% 타이로시네이즈 저해활성을 보이는 것과 비교하였을 때, 향후 미백 기능성 소재로서의 활용 가능성이 높다고 생각된다.

선이질풀 추출물의 멜라닌 생성 저해활성

선이질풀 추출물에 대한 세포독성 실험 측정에서 독성이 나타나지 않은 농도를 처리하여 멜라닌 생성 저해 활성을 측정하였다(Fig. 5). 대조군 대비하여 10, 50, 100 μg/mL의 GKE 농도에서 각각 29.11, 47.50, 78.31%의 멜라닌 생성 억제 활성을 확인하였다. 또한, 50% 멜라닌 저해활성 농도는 50.35 μg/mL이었으며 다른 천연소재 중 미백활성 효과로서 보고된 바(18) 있는 백합뿌리 추출물 100 μg/mL의 경우 74% 멜라닌 생성 저해활성을 보이는 것을 고려하면 멜라닌 생성 저해 활성이 매우 우수함을 의미한다. 즉, 시험재료에 있어서 피부미백효과는 멜라닌 생성 저해에 따른 타이로시네이즈 저해효과가 나타나야 한다. 본 연구의 선이

질풀 추출물의 경우도 멜라닌 저해 활성이 우수하였으며 이에 따른 타이로시네이즈 저해활성도 높았다.

선이질풀 추출물의 타이로시네이즈 발현 억제 효과

선이질풀 추출물에 의한 타이로시네이즈 단백질 발현에 미치는 영향을 B16F10 세포에 독성이 없는 농도에서 측정하였다(Fig. 6). B16F10 세포에 α-MSH를 처리하여 멜라닌 생성을 유도한 후, α-MSH와 GKE 모두 처리 하지 않은 대조군과 대비하였을 때, α-MSH와 함께 각각 무처리, 10, 50, 및 100 μg/mL의 GKE 농도에서 각각 148, 131, 126, 및 112%로 농도 의존적으로 타이로시네이즈 발현이 억제되었으며, 100 μg/mL GKE 농도에서 대조군과 통계적으로 차이가 없이 저하되는 것을 확인하였다. 따라서 선이질풀 추출물의 경우, 직접적인 타이로시네이즈 활성저해 및 발현억제 효과에 의한 기작으로 멜라닌 생성이 억제된 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서 국립원예특작과학원 인삼특작부 추출물은행에서 분양받은 에탄올 추출물 시료(시료번호: 4)인 선이질풀(*Geranium krameri*)에 대한 다양한 생리활성을 조사하여 기능성소재 응용가능성을 검토하였다. 선이질풀 추출물은 멜라노마 세포에 대하여 낮은 세포독성을 나타냈다. 세포독성이 거의 없는 농도에서 선이질풀 추출물 처리 시 산화방지 활성(IC₅₀, 8.72 μg/mL) 및 *B. subtilis*, *E. coli*, *C. albicans*에 대한 항균활성이 우수하게 나타났으며 타이로시네이즈 활성저해(IC₅₀, 456.86 μg/mL) 및 멜라닌 함량 저하(IC₅₀, 50.35 μg/mL)를 보여주었다. 또한, B16F10 세포에서 선이질풀 추출물 농도 의존적으로 타이로시네이즈 발현이 억제되었으며, 이는 선이질풀 추출물이 직접적인 타이로시네이즈 활성저해 및 세포 내 타이로시네이즈 발현을 억제시킴으로서 멜라닌 합성을 저해하는 것으로 판단된다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 선이질풀 추출물은 피부미백 소재 등 피부개선 효과를 지

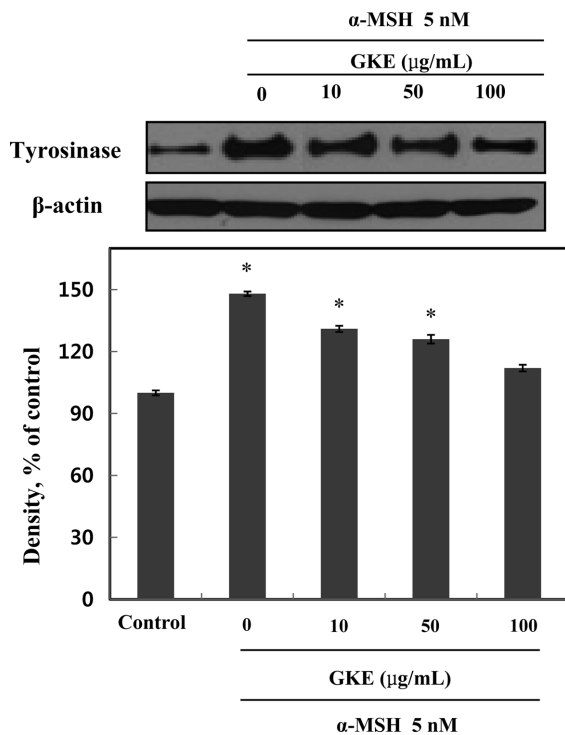


Fig. 6. Effect of *Geranium krameri* extract (GKE) on tyrosinase expression. Cells were treated with 5 nM α -MSH in presence or absence of GKE at the indicated concentrations for 2 days. β -Actin was used as an internal standard. Untreated group(both GKE and α -MSH) was used as a control. Values were normalized to β -actin before calculating changes and presented as mean \pm SEM. Differences were considered statistically significant when $*p < 0.05$. $*p < 0.05$ compared to the control group.

닌 기능성 화장품에 활용하기 위한 매우 효과적인 재료가 될 수 있다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2014년도 교육부와 한국연구재단(NRF)의 이공분야 기초연구지원사업의 지원(2014R1A1A2057651)에 의해 수행되었으며, 국립원예특작과학원 인삼특작부 추출물은행(과제번호 PJ009629)으로부터 제공받은 추출물(시료번호:4)을 재료로 사용하였으므로 이에 감사드립니다.

References

1. Kim B, Choi YE, Kim HS. *Eruca sativa* and its flavonoid components, quercetin and isorhamnetin, improve skin barrier function by activation of peroxisome proliferator-activated receptor

(PPAR)- α and suppression of inflammatory cytokines. *Phytother. Res.* 28: 1359-1366 (2014)

2. Sohn ES, Kim SW, Kang JS, Lee SP. Technology trend and patent information analysis of cosmetic materials derived from natural products. *Appl. Chem.* 8: 466-469 (2004)

3. Hill HZ, Li W, Xin P, Mitchell DL. Melanin: A two edged sword? *Pigm. Cell Res.* 10: 158-161 (1997)

4. Kobayashi T, Urabe K, Winder A, Jimenez-Cervantes C, Imokawa G, Brewington T, Solano F, Garcia-Borron JC, Hearing VJ. Tyrosinase related protein 1 (TRP1) functions as a DHICA oxidase in melanin biosynthesis. *EMBO J.* 13: 5818-5825 (1994)

5. Briganti S, Camera E, Picardo M. Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigm. Cell Res.* 16: 101-110 (2003)

6. Lamy E, Schröder J, Paulus S, Brenk P, Stahl T, Mersch-Sundermann V. Antigenotoxic properties of *Eruca sativa* (rocket plant), erucin and erysolin in human hepatoma (HepG2) cells towards benzo(a)pyrene and their mode of action. *Food Chem. Toxicol.* 46: 2415-2421 (2008)

7. Park JC. Functional food and oriental medicine. Hyoilbooks, Seoul, Korea (2007)

8. Ranke J, Mölter K, Stock F, Bottin-Weber U, Poczobutt J, Hoffmann J, Ondruschka B, Filser J, Jastorff B. Biological effects of imidazolium ionic liquids with varying chain lengths in acute *Vibrio fischeri* and WST-1 cell viability assays. *Ecotox. Environ. Safe.* 58: 396-404 (2004)

9. Miliuskas G, Venskutonis PR, van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85: 231-237 (2004)

10. Masamoto Y, Ando H, Murata Y, Shimoishi Y, Tada M, Takahata K. Mushroom tyrosinase inhibitory activity of esculetin isolated from seeds of *Euphorbia lathyris* L. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67: 631-634 (2003)

11. Hosoi J, Abe E, Suda T, Kuroki T. Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Res.* 45: 1474-1478 (1985)

12. Jeon YS, Jung YJ, Youm JK, Kim YK, Kim SN. Inhibitory effect of *Endarachne binghamiae* extract on melanin synthesis. *Korean J. Plant Res.* 26: 526-532 (2013)

13. Kim TH, You JK, Kim JM, Baek JM, Kim HS, Park JH, Choe M. Antioxidant and whitening effects of *Sorbus commixta* HEDL cortex extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1418-1424 (2010)

14. Song HS, Moon HJ, Park BE, Choi BS, Lee DJ, Lee JY, Kim CJ, Sim SS. Anti-oxidant activity and whitening activity of bamboo extracts. *Yakhak Hoeji* 51: 500-507 (2007)

15. Jeong GT, Lee KM, Park DH. Study of antimicrobial and antioxidant activities of *Rumex crispus* extract. *Korean Chem. Eng. Res.* 44: 81-86 (2006)

16. Kim HJ, Bae JY, Jang HN, Park SN. Comparative study on the antimicrobial activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* extracts with various countries of origin as natural antiseptics. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 41: 358-366 (2013)

17. Kim DH, An BJ, Lee JY. Whitening activities of the *Agrimonia pilosa* L. extracts. *J. Appl. Biol. Chem.* 54: 284-289 (2011)

18. Yoon HS, Yang KW, Kim JE, Kim JM, Lee NH, Hyun CG. Hypopigmenting effects of extracts from bulbs of *Lilium* oriental hybrid 'Siberia' in murine B16/F10 melanoma cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 705-711 (2014)