

## 바위수염 메탄올 추출물이 B16F10 흑색종 세포에서의 멜라닌합성에 미치는 영향

김향숙<sup>1</sup> · 천지민<sup>2</sup> · 권다혜<sup>1</sup> · 최은옥<sup>1</sup> · 김민주<sup>3</sup> · 최영현<sup>4,6</sup> · 김병우<sup>5,6</sup> · 황혜진<sup>2,6</sup>

<sup>1</sup>동의대학교 항노화연구소, <sup>2</sup>동의대학교 식품영양학과  
<sup>3</sup>(주)리오엘리, <sup>4</sup>동의대학교 한의학과, <sup>5</sup>동의대학교 생명응용학과  
<sup>6</sup>블루바이오소재개발 및 실용화지원센터

### Inhibitory Effects of *Myelophycus simplex* Papenfuss Methanol Extract on Melanogenesis in B16F10 Melanoma Cells

Hyang Suk Kim<sup>1</sup>, Ji Min Cheon<sup>2</sup>, Da Hye Kwon<sup>1</sup>, Eun Ok Choi<sup>1</sup>, Min Ju Kim<sup>3</sup>,  
Yung Hyun Choi<sup>4,6</sup>, Byung Woo Kim<sup>5,6</sup>, and Hye Jin Hwang<sup>2,6</sup>

<sup>1</sup>Anti-aging Research Center, <sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, <sup>4</sup>Department of Oriental Medicine,  
<sup>5</sup>Department of Life Science and Biotechnology, and <sup>6</sup>Blue Bio Industry RIC, Dong-Eui University  
<sup>3</sup>Lioele Cosmetic Co., Ltd.

**ABSTRACT** *Myelophycus simplex* Papenfuss, a type of brown algae, is known to be majorly distributed in along the southern coast of Korea and Japan. The purpose of this study was to investigate the effects of *M. simplex* Papenfuss methanol extract (MSPME) on melanogenesis in  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone-stimulated B16F10 melanoma cells. Melanin contents of B16F10 melanoma cells were decreased by 27, 41, and 59% in a dose-dependent manner, upon MSPME treatment at 100, 300, and 500  $\mu$ g/mL, respectively. Tyrosinase activities in B16F10 melanoma cells were decreased by 18, 49, and 61% in a dose-dependent manner, upon MSPME treatment at 100, 300, and 500  $\mu$ g/mL, respectively. MSPME suppressed expression of tyrosinase, tyrosinase-related protein-1, tyrosinase-related protein-2, and melanocyte-inducing transcription factor in B16F10 melanoma cells. Concentration of 50  $\mu$ g/mL of MSPME especially induced greater decreases in tyrosinase activity, melanin contents, and melanogenic enzyme protein expressions. This results indicate that MSPME inhibits melanin synthesis and tyrosinase activity, and *M. simplex* Papenfuss extract may be an ideal candidate as a skin whitening agent.

**Key words:** *Myelophycus simplex* Papenfuss, melanogenesis, tyrosinase

## 서 론

표피의 기저층에 존재하는 멜라닌은 인간의 피부색을 결정짓는 데 가장 중요한 역할을 하며, 태양 광선으로부터 들어오는 자외선을 차단하는 색소이다. 과도하게 합성되거나 노화 등에 의해 피부의 생리기능이 떨어지면 피부 표면에 침착되어 기미, 주근깨 및 다양한 색소로 나타난다(1). 멜라닌 합성은 tyrosinase, tyrosinase related protein-1 (TRP-1)과 tyrosinase related protein-2(TRP-2), cyclic adenosine monophosphate(cAMP) 유도 물질인 adrenocorticotrophic hormone(ACTH), forskolin과  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone( $\alpha$ -MSH) 등에 의해서 조절된다(2-4). 멜라닌은 인체표피층의 melanocyte 내의 melan-

osome에서 합성되는데, tyrosinase는 tyrosine을 산화시켜 3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA)으로 변환되는 산화반응으로 생합성된다(5). 따라서 tyrosinase 활성 억제 효과 검증은 미백 기능성 소재의 개발에 있어서 유용한 평가법으로 인정되고 있다(6,7).

최근 사람들이 미용에 관심이 증가하면서 피부 미백 기능성 소재에 관한 연구가 다양하게 이루어지고 있으며, 특히 효과적이고 안정적인 소재인 천연물을 이용한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 해조류의 미백 기능성에 대한 연구가 활발한데, 현재까지 톳 감태, 모자반, 미역 등의 갈조류의 멜라닌 합성 저해 효과에 대한 연구가 보고되고 있다(8-11). 갈조류에는 항암, 항염증 및 면역 증강작용 등의 생리활성이 있는 중성다당류인 기능성 푸코이단(fucoidan)과 라미나란(laminarin)이 다량 함유된 것으로 알려져 있다(12, 13). 특히 푸코이단은 천연 미백물질로서의 가능성이 높은 물질로 해조류 추출물을 이용한 피부미용 소재 산업화 및 기능성 화장품 개발 연구가 활발히 진행되고 있다(14).

Received 9 November 2016; Accepted 10 January 2017

Corresponding author: Hye Jin Hwang, Department of Food and Nutrition, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea  
E-mail: hhj2001@deu.ac.kr, Phone: +82-51-890-1594

바위수염(*Myelophycus simplex* Papenfuss)은 넓은 미역쇠과에 속하는 갈조류로서 실처럼 가늘고 긴 모양의 가지가 직립하고 뭉쳐서 자라며, 높이 5~15 cm, 굵기 1 mm 정도이다. 바위수염의 주된 분포지는 북태평양 서안과 우리나라의 남부해안 전역 및 일본에 분포하는 것으로 알려져 있다. 한국 남해안의 무인도의 해조상과 군집조사에 대한 연구에서 남해안의 무인도 10곳 중 양도, 감토도, 대연도 등 7곳에서 발견된 것으로 조사되었고, 월별 분포에 관한 조사에서도 바위수염은 남해안 가학리에 연중 내내 분포하는 것으로 조사되었다(15).

바위수염은 푸코이당을 함유하여 기능성을 많이 함유할 것으로 예상되지만 이제까지 진행된 연구는, 바위수염의 신경세포 보호 효과(16), 항비만 효과(17) 외에는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 바위수염 메탄올 추출물을 활용하여 멜라닌 합성에 대한 억제 효과를 검증하여 피부 미백 소재로의 활용 가능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 시료

본 연구에 사용된 바위수염 메탄올 추출물(*Myelophycus simplex* Papenfuss methanol extracts)은 제주 유용생물자원추출물은행(Jeju Bio-Resource Extract Bank, Jeju, Korea)에서 구입하여 이용하였다.

### 세포주 및 세포 배양

한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 B16F10 mouse melanoma cell을 분양받아 10% FBS(fetal bovine serum, WelGENE, Daegu, Korea)와 1% penicillin-streptomycin (Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA)이 첨가된 DMEM (WelGENE)을 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 세포수의 증식에 따른 과밀도 현상을 해소하기 위하여 배양한 B16F10 세포를 trypsin(HyClone, Logan, UT, USA)을 이용하여 적정수의 세포를 유지하였다.

### 시약 및 항체

단백질 분석을 위하여 사용된 tyrosinase, MITF, TRP1, TRP2 및 actin 항체는 Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA, USA) 및 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA)에서 구입하였다. Immunoblotting을 위해 2차 항체로 사용된 peroxidase-labeled donkey anti-rabbit 및 peroxidase-labeled sheep anti-mouse immunoglobulin은 Amersham Life Science Corp.(Arlington Heights, IL, USA)에서 구입하였다.  $\alpha$ -Melanocyte stimulating hormone( $\alpha$ -MSH)과 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA)는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

### 세포생존능(cell viability)의 측정

세포 배양용 6 well plate에 B16F10 melanoma 세포를  $3 \times 10^4$ /mL로 분주하여 바위수염 메탄올 추출물을 각 well 당 적정농도로 처리하였다. 72시간 후 희석된 0.5 mg/mL 농도의 tetrazolium bromide salt(MTT, Amresco, Solon, OH, USA)를 200  $\mu$ L씩 분주하고 2시간 동안 CO<sub>2</sub> incubator에서 배양시킨 다음 배지와 MTT 시약을 깨끗하게 제거하고 dimethylsulfoxide(DMSO, Amresco)를 2 mL씩 분주하여 well에 생성된 formazan을 모두 녹인 후 96 well plate에 200  $\mu$ L씩 옮겨서 ELISA reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 세포에 대한 독성은 각각의 대조군의 평균 흡광도 값을 구하여 평균 흡광도 값에 대한 백분율로 나타내었다.

### 멜라닌 생성 저해 활성 측정

B16F10 세포에  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone( $\alpha$ -MSH)과 바위수염 메탄올 추출물을 함께 처리하여 3일간 배양하고 세포를 수거하여 phosphate-buffered saline (PBS)으로 2번 세척하였다. 그 후에 10% DMSO가 함유된 1 N NaOH를 적정량 넣고 80°C에서 1시간 반응시킨 후 ELISA reader(Molecular Devices)로 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 세포 내 tyrosinase 저해 활성 측정

B16F10 세포에  $\alpha$ -MSH와 바위수염 메탄올 추출물을 함께 처리하여 3일간 배양하고 세포를 수거하여 lysis buffer(1% Triton X-100, 0.1 M phenylmethylsulfonyl fluoride)를 첨가하여 1시간 얼음에서 반응시켜 세포들을 용해시킨 후 원심분리 하여 상층액을 수집하였다. 수집한 단백질을 정량하고 L-DOPA를 첨가한 후 37°C에서 반응시키고 흡광도의 변화를 1시간 동안 관찰하면서 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Western blot analysis에 의한 단백질 발현의 분석

B16F10 세포에 적당량의 lysis buffer(1% Triton X-100, 0.1 M PMSF)를 첨가하여 4°C에서 1시간 동안 반응시킨 후, 14,000 rpm으로 30분간 원심분리 하여 상층액에 있는 총 단백질을 분리하였다. 상층액의 단백질 농도는 Bio-Rad 단백질 정량 시약(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)과 그 사용방법에 따라 정량한 다음 동량의 Laemmli sample buffer(Bio-Rad)를 섞어서 sample을 만들었다. 동량의 sample을 sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동으로 분리한 후, PVDF membrane(Bio-Rad)으로 electroblotting에 의해 전이시켰다. 분리된 단백질이 전이된 PVDF membrane을 5% skim milk를 처리하여 비특이적인 단백질들에 대한 blocking을 실시하고 1차 항체를 처리하여 상온에서 2시간 이상 또는 4°C에서 over night 시킨 다음 PBS-T로 세척하고 처리된

1차 항체에 맞는 2차 항체(PBS-T로 1:1,500으로 희석하여 사용)를 사용하여 상온에서 1시간 정도 반응시켰다. 반응이 끝난 후 암실에서 Enhanced Chemiluminescence(ECL) solution(Amersham Life Science Corp.)을 적용시킨 다음 X-ray film에 감광시켜 특정 단백질의 발현량을 분석하였다.

### 자료처리

모든 실험 결과는 3번 반복 측정하였으며 평균(mean)±표준편차(SD)로 나타내어 바위수염 추출물의 농도에 따른 차이를 비교하였다.

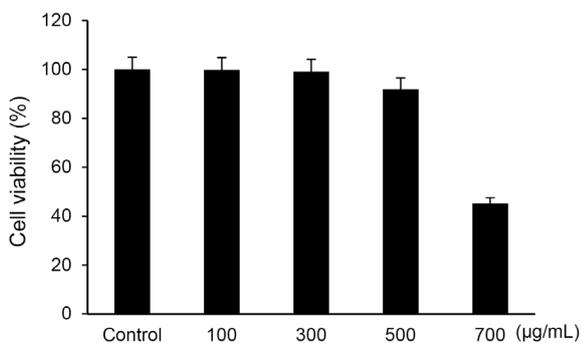
## 결과 및 고찰

### 바위수염 메탄올 추출물이 B16F10 melanoma cell 생존율에 미치는 영향

바위수염 메탄올 추출물이 B16F10 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 세포독성을 측정하였다. 바위수염 메탄올 추출물을 각각 100~700 µg/mL의 농도로 처리한 결과 100~500 µg/mL의 농도에서는 90% 이상의 생존율을 보여 이전 연구의 독성실험 결과(17)와도 일치하였다. 따라서 생존율 및 증식에 큰 영향을 미치지 않는 500 µg/mL 농도까지를 실험 조건으로 설정하였다(Fig. 1).

### 바위수염 메탄올 추출물이 B16F10 melanoma cell의 멜라닌 생성에 미치는 영향

멜라닌 생성 유도 물질인  $\alpha$ -MSH는 뇌하수체 및 피부를 포함한 여러 가지 말초조직에서 분비되며, 표피세포의 성장과 증식, 멜라닌 색소 생성, 국소조직의 면역조절 등 다양한 생리적 기능에 관여한다. 이는 세포막 수용체(melanocortin receptor 1, MC1R)와 결합하여 Gs 단백질을 활성화하고, 이차적으로 adenylate cyclase 활성화에 의해 cyclic adenosine monophosphate가 증가한다. 이후 연속적으로 protein kinase A(PKA), tyrosinase 활성화 등을 통하여 멜라닌



**Fig. 1.** Effect of *Myelophycus simplex* Papefuss methanol extract on the cell viability in B16F10 melanoma cell by the MTT assay. B16F10 cells were cultured with *Myelophycus simplex* extract for 72 h. Data were expressed as percentage of control. Control: *Myelophycus simplex* methanol extract 0 µg/mL.

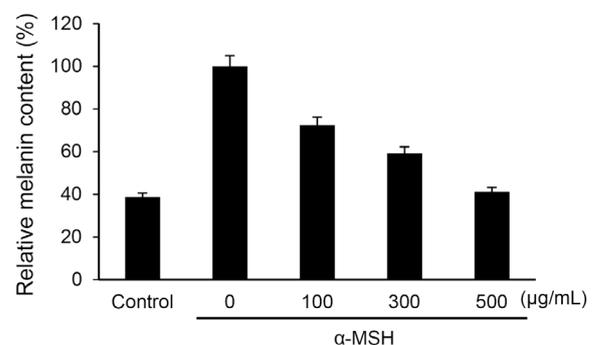
생성을 촉진해 microphthalmia-associated transcription factor(MITF) 단백질의 발현을 증가시켜 tyrosinase의 발현을 촉진하는 것으로 알려져 있다(18,19).

바위수염 메탄올 추출물을 농도별로 처리한 후 합성된 멜라닌의 양을 측정하였다. MTT 결과를 참고하여 멜라닌 생성량 측정 실험과 동일한 농도 범위에서 실험을 진행하였다. 멜라닌 생성은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 대조군에 비하여  $\alpha$ -MSH만 처리한 경우 뚜렷하게 증가하였고, 바위수염 메탄올 추출물을 100, 300, 500 µg/mL의 농도로 각각 처리한 결과  $\alpha$ -MSH만을 처리한 것과 비교해 27%, 41%, 59%로 농도 의존적으로 감소하였다. 따라서 바위수염 메탄올 추출물은  $\alpha$ -MSH에 의해 유도된 멜라닌 생성에 억제 효과를 나타내는 것으로 보인다.

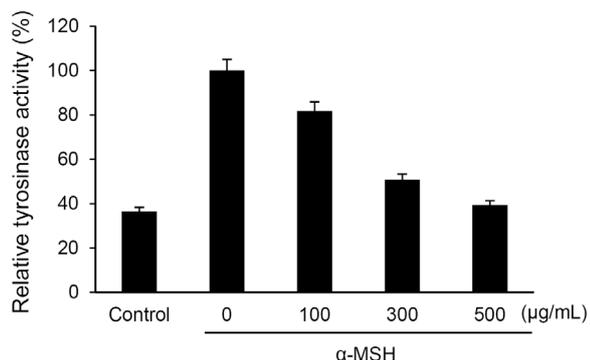
### 바위수염 메탄올 추출물이 세포 내 tyrosinase 활성에 미치는 영향

Tyrosinase는 멜라닌 합성의 초기단계인 L-tyrosine에서 L-DOPA를 거쳐 L-dopaquinone으로의 전환에 관여하며 최종적으로 melanin 색소 생성에 있어서 중요한 역할을 하는 효소이다. 특히 피부는 자외선에 노출되면서 tyrosinase의 작용으로 melanosome에서 멜라닌이 합성되어 피부 노화가 촉진되며, 색소침착과 피부 흑화 현상의 원인이 된다. 따라서 tyrosinase 활성저해제는 피부 미백제 개발에 널리 적용되며, 인체에 부작용이 적은 천연소재물의 연구에 집중되고 있다(20).

멜라닌 합성 과정에서 핵심 역할을 하는 효소인 tyrosinase의 활성을 바위수염 메탄올 추출물이 억제하는지 알아보기 위하여 바위수염 메탄올 추출물을 농도별로 처리한 후 tyrosinase의 활성을 측정하였다. MTT 결과를 참고하여 같은 농도 범위에서 실험을 진행하였다. Tyrosinase 활성도 마찬가지로 바위수염 메탄올 추출물을 100, 300, 500 µg/mL의 농도로 각각 처리한 결과  $\alpha$ -MSH만을 처리한 것과 비교해 18%, 49%, 61%로 농도 의존적으로 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 3).



**Fig. 2.** Effect of *Myelophycus simplex* Papefuss methanol extract on cellular melanin synthesis in B16F10 cells. Cells were treated with 200 nM  $\alpha$ -MSH in presence or absence of *Myelophycus simplex* extract at the indicated concentrations for 72 h. Melanin content was measured by absorbance at 405 nm.



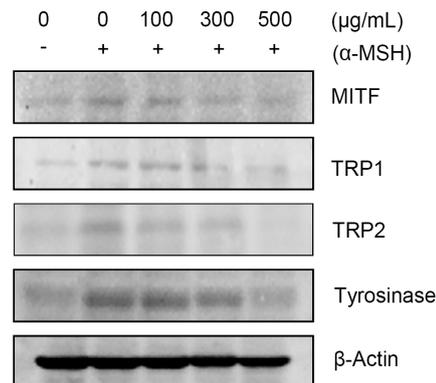
**Fig. 3.** Effect of *Myelophycus simplex* Papeufuss methanol extract on tyrosinase activity in B16F10 cells. Cells were treated with 200 nM  $\alpha$ -MSH in presence or absence of *Myelophycus simplex* extract at the indicated concentrations for 72 h. Tyrosinase activity was measured by absorbance at 475 nm.

갈조류의 기능성 성분인 푸코이단이 B16F10 melanoma 세포에서 멜라닌 합성에 미치는 영향을 조사한 연구에서 푸코이단의 농도가 증가함에 따라 멜라닌 생성과 tyrosinase 활성도가 농도 의존적으로 억제되었다는 보고가 있다(21). 또한, 해조류의 미백 효과에 대한 연구를 보면 감태에 대한 연구(17)에서 감태 열수 추출물의 경우 10 mg/mL 농도에서 tyrosinase 활성을 58% 저해하였다고 보고되었고, Choi 등(8)의 연구에서는 톳의 ethyl acetate 분획물 50 µg/mL 농도에서 tyrosinase 활성이 53.3% 감소하는 것으로 나타났다. 또한, 모자반의 미백 활성에 대한 연구(10)에서는 hexane 분획물이 B16F10 세포에서 tyrosinase 활성과 melanin 생성을 떨어뜨렸다고 보고된 바 있다.

**바위수염 메탄올 추출물이 멜라닌 합성 관련 효소의 단백질 발현량에 미치는 영향**

바위수염 메탄올 추출물이  $\alpha$ -MSH 자극에 의해 유도된 tyrosinase 활성과 멜라닌 생성을 억제하는 것을 확인하기 위하여 western blot으로 미백 관련 전사인자인 MITF, TRP-1, TRP-2, tyrosinase 발현을 조사하였다. Tyrosinase, TRP-1과 TRP-2의 발현을 조절하는 전사인자로는 MITF가 관여하는 것으로 알려져 있으며, 실제로 MITF는 melanin 생성과 관련된 여러 유전자의 발현을 조절하는 데 중요한 작용을 하고 있다(18).

$\alpha$ -MSH를 단독 처리한 경우에 각 단백질의 발현이 현저하게 증가하는 것을 확인할 수 있었으나, 바위수염 메탄올 추출물을 처리한 경우 농도 의존적으로 감소하는 것으로 나타났으며, 특히 500 µg/mL의 농도에서는 매우 뚜렷하게 억제되어 앞의 실험들과 같은 결과를 확인할 수 있었다(Fig. 4). 이상의 결과로부터 멜라닌 생합성에 있어서 상위신호단계에 있는 전사인자 MITF의 활성을 억제함으로써 하위 신호전달 과정을 억제하는 것임을 의미하며, 향후 추가적인 실험을 통해 바위수염 추출물이 미백 화장품 소재로의 활용 가능성이 높을 것으로 판단된다.



**Fig. 4.** Western blot analysis of the expression of MITF, TRP-1, TRP-2, tyrosinase in B16F10 melanoma cells.  $\beta$ -Actin was served as a loading control. Cells were treated with 200 nM  $\alpha$ -MSH in presence or absence of *Myelophycus simplex* Papeufuss methanol extract. Cells were lysed and cellular proteins were separated by SDS-polyacrylamide gels and transferred onto PVDF membranes. The membranes were probed with the indicated antibodies. Proteins were visualized using an ECL detection system.

**요 약**

본 연구는 바위수염 메탄올 추출물이 천연 미백 소재로의 가능성을 알아보기 위해 멜라닌 함량, 세포 내 tyrosinase 활성 측정 및 단백질 발현 실험이 수행되었다. 바위수염 메탄올 추출물의 농도에 따른 MTT assay를 통해 세포 생존율 및 증식에 큰 영향을 미치지 않는 500 µg/mL 농도까지를 실험 조건으로 설정하였다. B16F10 melanoma cell의 멜라닌 생성에 미치는 영향을 측정된 결과 대조군에 비하여  $\alpha$ -MSH만 처리한 경우 뚜렷하게 증가하였고, 바위수염 메탄올 추출물을 100, 300, 500 µg/mL의 농도로 각각 처리한 결과와  $\alpha$ -MSH만을 처리한 것과 비교해 27%, 41%, 59%로 농도 의존적으로 감소하였다. Tyrosinase 활성도 마찬가지로 바위수염 메탄올 추출물을 100, 300, 500 µg/mL의 농도로 각각 처리한 결과와  $\alpha$ -MSH만을 처리한 것과 비교해 18%, 49%, 61%로 농도 의존적으로 감소하는 것으로 나타났다. 바위수염 메탄올 추출물이 멜라닌 합성 관련 단백질 발현에 대한 영향을 확인하기 위하여 western blot으로 미백관련 전사인자인 MITF, TRP-1, TRP-2, tyrosinase 발현을 조사하였다.  $\alpha$ -MSH를 단독 처리한 경우에 각 단백질의 발현이 현저하게 증가하는 것을 확인할 수 있었으나, 바위수염 메탄올 추출물을 처리한 경우 농도 의존적으로 감소하는 것으로 나타났으며, 특히 500 µg/mL의 농도에서 매우 효과적으로 억제되었다. 이상의 결과로부터 바위수염 추출물은 멜라닌 생합성에 있어서 상위신호단계에 있는 전사인자 MITF의 활성을 억제한다고 보고, 향후 미백 기능성 화장품 소재로서 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 산업통상자원부·부산광역시 지원 동의대학교 블루바이오 소재 개발 및 실용화 지원 센터(RIC 08-06-07)의 지원에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Hill HZ, Li W, Xin P, Mitchell DL. 1997. Melanin: a two edged sword?. *Pigment Cell Res* 10: 158-161.
- Buscà R, Ballotti R. 2000. Cyclic AMP a key messenger in the regulation of skin pigmentation. *Pigment Cell Res* 13: 60-69.
- Kreiner PW, Gold CJ, Keims JJ, Brock WA, Bitensky MW. 1973. Hormonal control of melanocytes: MSH-sensitive adenylyl cyclase in the Cloudman melanoma. *Yale J Biol Med* 46: 583-591.
- Tada A, Suzuki I, Im S, Davis MB, Cornelius J, Babcock G, Nordlund JJ, Abdel-Malek ZA. 1998. Endothelin-1 is a paracrine growth factor that modulates melanogenesis of human melanocytes and participates in their responses to ultraviolet radiation. *Cell Growth Differ* 9: 575-584.
- Costin GE, Hearing VJ. 2007. Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *FASEB J* 21: 976-994.
- Prota G. 1990. Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals. *J Invest Dermatol* 75: 122-127.
- Pavel S, Muskiet FA. 1980. Eumelanin (precursor) metabolites as markers for pigmented malignant melanoma: a preliminary report. *Cancer Detect Prev* 6: 311-316.
- Choi EO, Kim HS, Han MH, Choi YH, Park C, Kim BW, Hwang HJ. 2013. Effect of *Hizikia fusiforme* fractions on melanin synthesis in B16F10 melanoma cells. *J Life Sci* 23: 1495-1500.
- Cho EK, Choi YJ. 2010. Physiological activities of hot water extracts from *Ecklonia cava* Kjellman. *J Life Sci* 20: 1675-1682.
- Chan YY, Kim KH, Cheah SH. 2011. Inhibitory effects of *Sargassum polycystum* on tyrosinase activity and melanin formation in B16F10 murine melanoma cells. *J Ethnopharmacol* 137: 1183-1188.
- Kim DM, Kim KH, Sung NY, Jung PM, Kim JS, Kim JK, Kim JH, Choi J, Song BS, Lee JW, Kim JK, Yook HS. 2011. Effect of gamma irradiation on the extraction yield and whitening activity of polysaccharides from *Undaria pinnatifida* sporophyll. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 712-716.
- Noda H, Amano H, Arshima K, Hashimoto S, Nisizawa K. 1989. Studies on the antitumor activity of marine algae. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 1259-1264.
- Schwartzmann G, Brondani da Rocha A, Berlinck RG, Jimeno J. 2001. Marine organisms as a source of new anti-cancer agents. *Lancet Oncol* 2: 221-225.
- Kwon DJ, Lim ST, Chung YJ, Park SH, Kweon DK. 2006. Comprehension and practical use of fucoidan extracted from brown sea weeds. *Food Sci Ind* 39: 73-80.
- Oh BG, Lee JW, Lee HB. 2002. A summer marine benthic algal flora and community of uninhabited islands in Haenamgun, southern coast of Korea. *J Korean Fish Soc* 35: 57-63.
- Shin DB, Han EH, Park SS. 2014. Cytoprotective effects of phaeophyta extracts from the coast of Jeju island in HT-22 mouse neuronal cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 224-230.
- Kim HS, Kwon DH, Choi EO, Kim JH, Han MH, Choi YH, Kim BW, Hwang HJ. 2015. Effects of *Myelophycus simplex* Papefuss methanol extract on adipocyte differentiation and adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J Life Sci* 25: 62-67.
- Friedmann PS, Wren F, Buffey J, Macneil S. 1990.  $\alpha$ -MSH causes a small rise in cAMP but has no effect on basal or ultraviolet-stimulated melanogenesis in human melanocytes. *Br J Dermatol* 123: 145-151.
- Hunt G, Todd C, Cresswell JE, Thody AJ. 1994.  $\alpha$ -Melanocyte stimulating hormone and its analogue Nle4DPhe7  $\alpha$ -MSH affect morphology, tyrosinase activity and melanogenesis in cultured human melanocytes. *J Cell Sci* 107: 205-211.
- Kim JW, Kim DK, Park JS, Lee YK, Beik KY, Kim SD. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of shark collagens, and inhibitory actions on elastase and tyrosinase. *Koreana J Food Preserv* 16: 419-426.
- Jung SH, Ku MJ, Moon HJ, Yu BC, Jeon MJ, Lee YH. 2009. Inhibitory effects of fucoidan on melanin synthesis and tyrosinase activity. *J Life Sci* 19: 75-80.