

Research Article










성숙도에 따른 복분자 열매의 미백 활성 비교

박정용 ¹, 이지연 ^{1,2}, 서경혜 ¹, 장귀영 ¹, 이승은 ¹, 지윤정 ¹, 김형돈 ¹

¹농촌진흥청 인삼특작부
²충북대학교 식품공학과

Comparison of whitening effect of *Rubus coreanus* fruit according to maturity

Jeong-Yong Park ¹, Ji Yeon Lee ^{1,2}, Kyung Hye Seo ¹, Gwi Young Jang ¹,
Seung Eun Lee ¹, Yun-Jeong Ji ¹, and Hyung Don Kim ¹

¹Department of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Eumsung 27709, Korea

²Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

OPEN ACCESS

Received: Feb 11, 2020

Revised: Mar 25, 2020

Accepted: Apr 1, 2020

Correspondence to

Hyung Don Kim

Department of Herbal Crop Research,
National Institute of Horticultural & Herbal
Science, 92 Bisan-ro, Eumsung 27709, Korea.
Tel: +82-43-871-5783
E-mail: khd0303@orda.go.kr

© 2020 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID iDs

Jeong-Yong Park 
<https://orcid.org/0000-0003-4964-4272>
Ji Yeon Lee 
<https://orcid.org/0000-0002-3622-7392>
Kyung Hye Seo 
<https://orcid.org/0000-0002-8155-8051>
Gwi Young Jang 
<https://orcid.org/0000-0001-9467-453X>
Seung Eun Lee 
<https://orcid.org/0000-0003-1511-3262>
Yun-Jeong Ji 
<https://orcid.org/0000-0003-1182-2328>
Hyung Don Kim 
<https://orcid.org/0000-0003-0993-4347>

<https://e-jnh.org>

ABSTRACT

Purpose: The *Rubus coreanus* fruit (RF) is an important traditional medicinal herb having antioxidant, anti-inflammatory, and immunoregulatory properties. These activities are known to change dramatically, depending on maturity of the RF. It is presumed that change of functional components, such as flavonoids, tannins, phenolic acids, triterpenoids and organic acids in RF, affect the various bioactivities. This study aimed to confirm changes in the anti-melanogenic effects of RF based on maturity, and to identify the bioactive compounds responsible.

Methods: The cell viability of mature RF (MRF) and immature RF (IRF) extracts was investigated using B16F10 cells. To compare the anti-melanogenic effect of MRF and IRF extracts, we first assessed the melanin content. High-performance liquid chromatography analysis was performed to evaluate changes in the level of ellagic acid according to maturity of the RF. In addition, tyrosinase inhibitory activity of both extracts was examined.

Results: MRF and IRF extracts (50–200 µg/mL) do not affect the cell viability of B16F10 melanoma cells. IRF extract more effectively inhibited melanin synthesis than MRF extract. The content of ellagic acid in IRF extract was higher than that obtained in MRF extract. Furthermore, greater inhibition of tyrosinase activity was observed after exposure to IRF extract than MRF extract. A positive correlation was determined between ellagic acid content and tyrosinase inhibitory activity, and a negative correlation was obtained between ellagic acid content and melanin content. Taken together, our results indicate that ellagic acid is one of the major bioactive compounds of RF that imparts a whitening effect.

Conclusion: Our results indicate that ellagic acid in MRF and IRF extracts affect the anti-melanogenesis effect through inhibition of tyrosinase activity. Therefore, the ellagic acid rich IRF has greater potential for application as a natural and functional cosmetic material.

Keywords: *Rubus coreanus*, ellagic acid, melanoma cell, tyrosinase, melanin

Funding

This work was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agriculture Science and Technology Development (project No. PJ01273002)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

Conflict of Interest

There are no financial or other issues that might lead to conflict of interest.

서론

피부는 외부의 자극으로부터 가장 먼저 노출된다. 피부가 자외선에 노출이 되면 화상, 염증, 피부 조직 손상을 야기하고 자외선에 지속적으로 노출되면 색소 침착 및 피부암을 유발할 수 있다 [1]. 멜라닌은 세포질 내 멜라노솜에서 합성이 되며 사이토카인 (cytokine), 성장인자 (growth factor) 및 멜라닌 생성에 관여하는 효소들에 따라서 조절된다 [2,3]. 멜라닌 합성 과정에서 가장 중요하게 작용하는 효소는 tyrosinase이며, tyrosinase에 의해 L-tyrosine이 L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)로 산화되고, L-DOPA가 dopaquinone으로 산화되어 최종적으로 eumelanin과 pheomelanin이 합성된다 [4,5]. Tyrosinase의 활성을 억제하는 미백제로 arbutin 및 kojic acid 등이 알려져 있지만 안정성의 문제가 있으므로 천연소재를 이용한 미백제의 개발이 필요하다 [6].

복분자 열매 (*Rubus coreanus* fruit, RF)는 black raspberry라 불리는 장미과 야생 딸기이며 한국, 중국 및 일본에서 자생한다 [7]. 5-6월에 꽃이 피고 7-8월에 열매가 성숙하여 완전히 익는다 [8]. 한방에서 덜 익은 복분자 열매를 약재로 사용하였으며 간, 신장 보강 및 빈뇨 치료에 사용하였다 [9]. 복분자는 항산화, 항염증 및 항바이러스 등 다양한 효과가 있는 것으로 보고되었으며 [10], 복분자 열매의 생리활성 성분은 cyanidin 3-O-glucoside, cyanidin 3-O-xylosylrutinoside, cyanidin 3-O-rutinoside 등 안토시아닌 성분과 ellagic acid 및 phenolics 등이 알려져 있다 [11]. 또한 복분자는 성숙도에 따라 유효성분의 함량에 차이를 보인다고 보고되었다 [12]. 성숙 복분자 (mature RF, MRF)와 미성숙 복분자 (immature RF, IRF)가 tyrosinase를 억제하여 미백 효과를 가진다는 결과는 이미 보고되었지만 [8,13], 성숙도에 따른 복분자 열매의 미백 활성을 비교하고 미백 활성에 영향을 미치는 기능성분에 대해 연구한 결과는 전무한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 MRF와 IRF의 미백 활성을 비교하고, 활성 차이의 원인인 기능성분을 탐색하였으며, 천연물 미백소재로서 복분자 열매를 활용하기 위한 적절한 수확 시기를 확인하였다.

연구방법**추출물 준비**

본 연구에서는 2017년 전라도 광양에서 개화 후 30일과 45-70일 동안 재배된 미성숙 (IRF) 및 성숙 (MRF) 복분자 열매를 수집하여 사용하였다. MRF 및 IRF는 70% 주정 (시료/용매 비율, 1:10)으로 실온에서 24시간 3회 반복 교반 추출하였다 [14]. 추출물은 여과 후 진공 농축하고 dimethyl sulfoxide (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 녹여 사용하였다.

세포배양

멜라노마 (B16F10) 세포는 American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. B16F10 세포의 생육배지로 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Grand Island, NY, USA)과 10% fetal bovine serum (Gibco)가 포함된 Dulbecco's modified eagles medium (Gibco)을 사용하였고 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하였다.

세포 생존율

B16F10 세포를 96-well plate에 1×10^4 cell/well로 분주하여 24시간 배양한 후 MRF 및 IRF 추출물을 25–200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리하였다. 48시간 후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS; Promega, Madison, WI, USA) assay를 수행하여 multimode microplate reader (Biotek Inc., Winooski, VT, USA)로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Melanin 함량 측정

멜라닌 함량 측정은 Hosoi 방법 [15]을 변형하여 사용하였다. B16F10 세포를 6-well plate에 1.0×10^5 cell/well로 분주하여, 24시간 배양한 후 MRF 및 IRF 추출물을 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리하고 1시간 후 멜라닌생성호르몬(α -melanocystimulating hormone, α -MSH; Sigma-Aldrich)을 1 μM 농도로 처리하였다. 48시간 후 Dulbecco's phosphate-buffered saline (Gibco)로 세포를 회수하고 1N sodium hydroxide (NaOH)로 90°C에서 1시간 동안 가열하여 세포를 용해하였다. Multimode microplate reader로 405 nm에서 흡광도를 측정하여 함량을 계산하였다.

High performance liquid chromatography (HPLC) 분석

MRF와 IRF의 ellagic acid 정량분석은 고속 액체 크로마토그래피 (HPLC) 분석을 이용하였다. 복분자의 ellagic acid 정량분석에는 Waters 2795 series (Waters, Houston, TX, USA)를 사용하였고 diode array detector로 Waters 2495 series (Waters)를 사용하였다. 복분자의 표준 물질은 ellagic acid (Sigma-Aldrich)를 사용하였으며, 10 mg/mL로 methanol에 용해시킨 후 0.45 μM PVDF membrane filter (Pall Co., Port Washington, NY, USA)로 여과 후 사용하였다. 칼럼은 INNO C18 column (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm)을 사용하였고, 이동상은 0.1% phosphoric acid in H_2O (용매 A)과 methanol (용매 B)를 사용하였다. 분석을 위한 조건은 [16]을 변형하여 사용하였다. 분석 조건은 다음과 같다. 30%–35%, 8.5 minutes; 35%–45%, 12 minutes; 45%–55%, 15 minutes; 55%–70%, 18 minutes; 70%–30%, 35 minutes (B%). 검출기는 UV detector 370 nm로 하였다. 주입량은 10 μL 이며, 유속은 1.0 mL/min을 사용하였다.

Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 효소와 기질인 L-tyrosine을 사용하여 tyrosinase activity inhibition을 평가하였다. Tyrosinase inhibitor screening kit (Biovision #K575-100; BioVision, Inc., Milpitas, CA, USA) 제조사의 매뉴얼에 따라 실험을 진행하였다. Multimode microplate reader로 510 nm에서 흡광도를 60 minutes 동안 kinetic mode로 측정하였다. Tyrosinase 저해 활성 측정을 위한 계산 방법은 다음과 같다.

EC = enzyme activity control

S = test inhibitors (sample)

IC = inhibitor control

$$\% \text{ Relative inhibition} = \frac{\text{Slope of EC} - \text{Slope of S}}{\text{Slope of EC}} \times 100$$

통계처리

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 평균 (mean) ± 표준편차 (SD)로 표기하였다. One-way analysis of variance test를 실시하였고, Duncan's Multiple Comparison test (SPSS, ver. 22.0 for Window; IBM Corp., Armonk, NY, USA)로 사후검증을 실시하였다. 상관관계 분석은 Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, ver. 22.0 for Window; IBM Corp.)의 Pierson's correlation coefficient로 검증하였다. $p < 0.05$ 일 때, 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

결과

복분자 열매 추출물의 세포 독성 평가

MRF와 IRF 추출물이 B16F10 세포에서 독성이 있는지 확인하기 위해 추출물을 각각 25, 50, 100 및 200 µg/mL의 농도로 처리하고 48시간 후 MTS assay를 수행하였다. MRF 추출물은 100%-104%의 생존율을 보였고, IRF 추출물은 105%-108%의 생존율을 보였다 (Fig. 1). 복분자 열매 추출물은 모두 B16F10 세포에서 독성을 나타내지 않았으며, 이 결과를 바탕으로 세포 생존율에 영향을 주지 않는 50-200 µg/mL 농도로 이후 연구를 진행하였다.

복분자 열매 추출물의 melanin 생성 억제 효과

MRF 및 IRF 추출물이 멜라닌 생성에 억제 효과를 나타내는지 확인하기 위해 B16F10 세포에 MRF 및 IRF 추출물 (200 µg/mL)을 처리하였고 1시간 후 α-MSH (1 µM)을 처리하여 추출물 처리가 melanin 함량 변화에 미치는 영향을 확인하였다 (Fig. 2). MRF 추출물은 melanin 생성에 거의 영향을 미치지 않는 반면 (3.4%), IRF 추출물은 35% 정도 억제하였다. 이와 같은 실험 결과로 MRF 추출물에 비해 IRF 추출물이 melanin 생성을 효과적으로 억제함을 확인할 수 있었다.

MRF와 IRF의 ellagic acid 함량 비교

선행 연구를 통해 복분자의 지표 성분이며 미백 활성이 있다고 알려져 있는 ellagic acid의 함량을 성숙도에 따라 정량 분석하였다 (Table 1). Ellagic acid는 복분자의 지표 성분이며 항산화

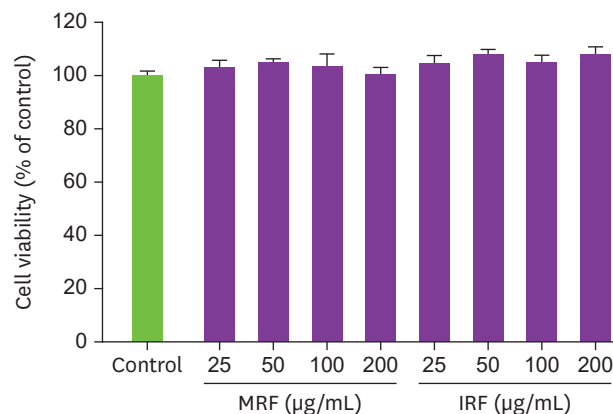


Fig. 1. Cell viability of MRF and IRF extracts on B16F10 cells. B16F10 cells were treated MRF and IRF extracts (A) MRF, (B) IRF of 25, 50, 100, and 200 µg/mL for 48 hours. Cell viability was examined using MTS assay. Results are means ± SD.

MRF, mature *Rubus coreanus* fruit; IRF, immature *Rubus coreanus* fruit.

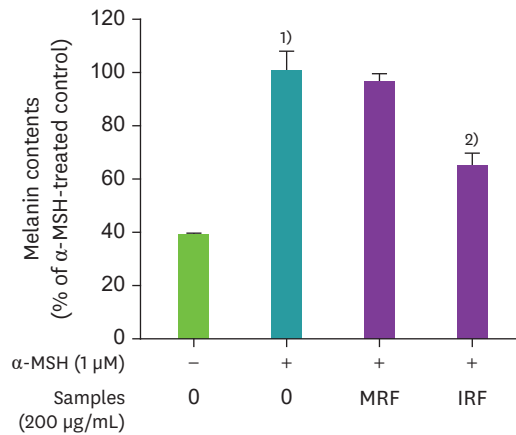


Fig. 2. Effect of MRF and IRF extracts on melanin contents in B16F10 cells. B16F10 cells were treated with α-MSH (1 μM) and MRF and IRF extracts of 200 μg/mL for 48 hours. Results are means ± SD of 3 independent experiments. MRF, mature *Rubus coreanus* fruit; IRF, immature *Rubus coreanus* fruit; α-MSH, α-melanocytostimulating hormone. Significance was determined using analysis of variance; ¹⁾p < 0.001 vs. non-treated control. ²⁾p < 0.001 vs. α-MSH-treated control according to Tukey's multiple comparison test.

Table 1. Ellagic acid contents of MRF and IRF

Extract	MRF	IRF
Ellagic acid (μg/mg extract weight)	1.08 ± 0.27 ^b	5.02 ± 0.43 ^a

All data are presented as the means ± SD of triplicate determinations. Value with different letters indicate significance between groups by Duncan's multiple range test (p < 0.05). MRF, mature *Rubus coreanus* fruit; IRF, immature *Rubus coreanus* fruit.

및 tyrosinase 저해 활성이 알려져 있다. MRF 추출물의 ellagic acid 함량은 1.08 ± 0.27 μg/mg로 측정되었고, IRF 추출물은 5.02 ± 0.43 μg/mg로 MRF 추출물에 비해 높게 측정되어 예상대로 멜라닌 생성 억제 활성과 비례한 함량을 보여주었다.

복분자 열매 추출물의 tyrosinase 저해 활성

IRF 미백 활성의 기능성분이 ellagic acid라면 복분자 열매 추출물의 tyrosinase 저해 활성 또한 ellagic acid 함량에 비례하게 차이가 날 것이라 예상하고 tyrosinase 저해 활성을 평가하였다 (Fig. 3). MRF, IRF 추출물 및 ellagic acid를 50 μg/mL 농도로 처리하여 실험한 결과, MRF 추출

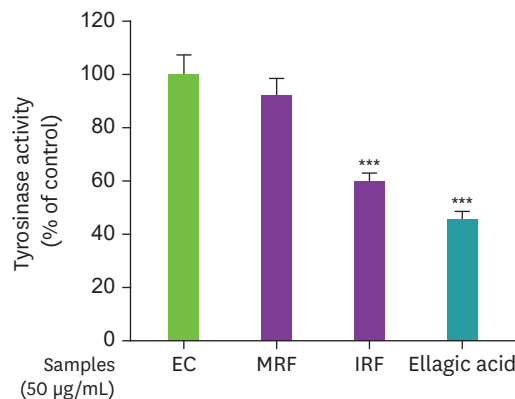


Fig. 3. Effect of MRF and IRF extracts on tyrosinase inhibition activity. Values are expressed as means ± SD of triplicate determination. EC, enzyme control; MRF, mature *Rubus coreanus* fruit; IRF, immature *Rubus coreanus* fruit. Significance was determined using analysis of variance; ***p < 0.001 vs. EC according to Tukey's multiple comparison test.

Table 2. The correlation factors among ellagic acid contents, tyrosinase activities and melanin contents

Factors	Ellagic acid contents	Tyrosinase activities	Melanin contents
Ellagic acid contents	1	-0.940*	-0.985***
Tyrosinase activities		1	0.949**
Melanin contents			1

Significance was determined using SPSS (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

물은 tyrosinase의 활성을 거의 억제하지 못한 반면 (8%), IRF 추출물은 약 40% 저해하였다. tyrosinase inhibitor로 알려진 ellagic acid (55%)에 비교해도 우수한 저해 활성을 보여주었다.

복분자 열매의 ellagic acid 함량과 미백 활성의 상관관계 분석

본 연구의 결과로 MRF와 IRF 추출물의 ellagic acid 함량, tyrosinase 저해 활성 및 melanin 생성 억제 효과에 대한 상관관계를 알아보기 위해 상관분석을 실시하였다 (Table 2). Ellagic acid 함량은 tyrosinase 저해 활성과 음의 상관관계 (-0.940)를 보였고 melanin 생성 억제 효과 또한 음의 상관관계 (-0.985)를 보였다. Tyrosinase 저해 활성과 melanin 생성 억제 효과는 양의 상관관계를 보였다 (0.735). 결과적으로 IRF 추출물에 풍부한 ellagic acid가 tyrosinase의 활성을 저해하여 B16F10 세포 내 melanin 생성을 억제함을 확인할 수 있었다.

고찰

산업화가 진행되면서 발생하는 환경오염으로 매년 지표면으로 도달하는 자외선의 양은 증가하고 있다 [17]. 지난 20년간 환경오염으로 인한 자외선 노출 증가로 DNA 손상, 면역 억제, 피부 손상 및 피부암 등 다양한 질병들의 발생도 늘어나고 있다 [18,19]. 피부 질환의 일종인 흑색종을 유발하는 멜라닌의 생성 과정에서 산화환원반응은 중요하게 작용하는 것으로 알려져 있고 [20], 이와 관련해 미백 효과가 있는 약물의 개발이 지속적으로 이루어지고 있지만, 약물의 안정성 등이 문제가 되어 천연물을 이용한 소재들의 개발이 요구되고 있는 상황이다. 복분자는 각종 안토시아닌과 ellagic acid가 풍부하여 천연 항산화제로 유용하게 작용할 수 있다고 알려져 있는데 [16], Ellagic acid는 복분자 외에도 딸기, 라즈베리, 크랜베리 및 포도를 포함한 많은 종류의 열매에 고농도로 존재하는 기능성분을 말한다 [21].

본 연구 이전의 선행 연구에 따르면 MRF와 IRF의 항산화 활성을 비교하였을 때 IRF의 항산화 활성이 3배 이상 효과가 있었다 [11]. 멜라닌의 생성은 자외선에 의한 산화적 스트레스에 의해 생성이 촉진되어 이를 막기 위한 항산화 물질이 멜라닌 생성의 억제에 효과적이라는 연구결과가 보고되었기 때문에 [22], 성숙도에 따른 복분자 추출물이 항산화능에 비례하여 미백 활성에 나타나는지 확인하였다. MRF와 IRF 추출물 처리 후 melanin 생성량을 확인한 결과, MRF 추출물은 melanin 생성에 거의 영향을 미치지 않는 반면 IRF 추출물은 우수한 melanin 억제 활성을 보여주었다. 복분자의 지표성분으로 알려져 있고 미백 활성이 우수한 ellagic acid가 복분자 열매의 미백 활성 기능성분일 것이라 판단하고 ellagic acid의 정량분석을 실시한 결과, MRF에 비해 IRF 추출물에서 약 5배 높은 함량을 보여주었다.

Ellagic acid는 천연 생체활성물질로 항산화제로써 직접 작용하거나 세포 내 항산화 효소를 활성화하는 역할을 하는 것으로 알려져 있고 [23], 복분자의 성숙도에 따라 염증 반응에 효과가

있는 ellagic acid의 함량이 달라져 항염증 활성의 차이를 나타냈다는 연구 결과도 보고되었다 [24]. 또한 ellagic acid의 미백 활성이 멜라닌 생성에 관여하는 효소인 tyrosinase의 inhibitor로 작용한다고 알려져 있기 때문에 [25], 본 연구에서는 성숙도에 따른 복분자 열매 추출물의 tyrosinase 저해 활성을 평가하였다. 그 결과 MRF (8%)에 비해 IRF 추출물 (40%)에서 억제 활성이 좋게 나타났으며 추출물의 ellagic acid 함량과 비례한 결과를 보여주었다.

성숙도에 따른 ellagic acid의 함량과 미백 활성의 상관관계를 확인하기 위해 상관관계 분석을 실시하였다. 본 연구의 실험 결과로 ellagic acid와 tyrosinase activity 및 melanin 생성량의 상관관계를 분석한 결과, Ellagic acid 함량은 tyrosinase activity (-0.940) 및 melanin 생성량 (-0.985)과 강한 음의 상관관계를 보였다. 다시 말해 복분자 열매 추출물의 ellagic acid의 함량이 높을수록 tyrosinase activity를 낮추고 그에 따라 melanin 생성도 억제되었다. 따라서 복분자 열매는 성숙할수록 ellagic acid의 함량이 감소하고, 그에 따라 tyrosinase 저해 활성도 낮아져 미백 활성도 없어지므로 천연 미백 소재로 이용하기 위해서는 미성숙과를 이용하는 것이 유리함을 확인할 수 있었다.

요약

본 연구에서는 복분자 열매의 성숙도에 따른 미백 활성의 차이를 확인하기 위해 B16F10 cell에서 melanin 생성량을 측정하고, 기능성분인 ellagic acid의 함량 변화를 확인하였다. 또한 ellagic acid의 함량에 따른 tyrosinase 저해 활성도 측정하였다. B16F10 cell에서 MRF 및 IRF 추출물은 200 µg/mL 농도까지 세포 독성을 나타내지 않았고, Melanin 생성량은 MRF 추출물에 비해 IRF 추출물에서 더 좋은 억제 활성을 보여주었다. 또한 복분자 성숙도에 따른 ellagic acid의 함량 변화를 확인한 결과, MRF 추출물에 비해 IRF 추출물에서 ellagic acid의 함량이 높게 측정되었고, tyrosinase 저해 활성 평가에서도 MRF 추출물에 비해 IRF 추출물에서 더 좋은 억제 활성을 보였다. 결과를 종합해보면, MRF 추출물에 비해 IRF 추출물에서 ellagic acid의 함량이 더 높았으며, 이로 인해 tyrosinase의 저해 및 melanin 생성 억제 또한 IRF 추출물에서 더 좋은 것으로 판단된다. 따라서, 복분자 미성숙과는 천연 미백 소재로서 우수한 기능성 화장품 원료가 될 것이라 생각한다.

REFERENCES

1. Park JY, Lee JY, Lee DY, Kim HD, Kim GS, Lee SE, et al. Melanogenesis inhibitory effect of steamed *Platycodon grandiflorum* on B16F10 cells. *Asian J Beauty Cosmetol* 2019; 17(1): 37-46.
[CROSSREF](#)
2. Jeon S, Hwang W, Hong Y, Kim M, Ahn E, Park S. Inhibitory effects of *Hericium erinaceus* extracts on melanin synthesis and oxidative stress. *Asian J Beauty Cosmetol* 2016; 14(4): 427-435.
3. Videira IF, Moura DF, Magina S. Mechanisms regulating melanogenesis. *An Bras Dermatol* 2013; 88(1): 76-83.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
4. Heitz MP, Rupp JW, Horn KW. Biocatalytic activity of mushroom tyrosinase in ionic liquids: specific ion effects and the Hofmeister series. *Insights Enzym Res* 2018; 2(1): 1.
5. Oh TI, Yun JM, Park EJ, Kim YS, Lee YM, Lim JH. Plumbagin suppresses α -MSH-induced melanogenesis in B16F10 mouse melanoma cells by inhibiting tyrosinase activity. *Int J Mol Sci* 2017; 18(2): E320.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

6. Yamakoshi J, Otsuka F, Sano A, Tokutake S, Saito M, Kikuchi M, et al. Lightening effect on ultraviolet-induced pigmentation of guinea pig skin by oral administration of a proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Pigment Cell Res* 2003; 16(6): 629-638.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
7. Lee SM, You Y, Kim K, Park J, Jeong C, Jhon DY, et al. Antioxidant activities of native Gwangyang *Rubus coreanus* Miq. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2012; 41(3): 327-332.
[CROSSREF](#)
8. Jeong HS, Han JG, Han JH, Kim Y, Oh SH, Kim SS, et al. Antioxidant activities and skin-whitening effects of nano-encapsulated water extract from *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J Med Crop Sci* 2009; 17(2): 83-89.
9. Park T, Yang K, Chang S, Kim SY. Anti-inflammatory effect of *Rubus coreanus* Miquel extract from Jeju Island in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *KSBB J* 2019; 34(3): 167-172.
[CROSSREF](#)
10. Han HM. Inhibitory effects of *Terminalia chebula*, *Sanguisorba officinalis*, *Rubus coreanus* and *Rheum palmatum* on hepatitis B virus replication in HepG2 2.2. 15 cells. *Yakhak Hoeji* 1999; 43(4): 458-463.
11. Seo KH, Lee JY, Park JY, Jang GY, Kim HD, Lee YS, et al. Differences in anti-inflammatory effect of immature and mature of *Rubus coreanus* fruits on LPS-induced RAW 264.7 macrophages via NF- κ B signal pathways. *BMC Complement Altern Med* 2019; 19(1): 89.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
12. Kim LS, Youn SH, Kim JY. Comparative study on antioxidant effects of extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2014; 43(9): 1357-1362.
[CROSSREF](#)
13. Han SB, Kwon SS, Kong BJ, Kim KJ, Park SN. Antioxidative effect and tyrosinase inhibitory activity of the unripened fruit extract of *Rubus coreanus* Miquel. *J Soc Cosmet Sci Korea* 2013; 39(4): 295-302.
[CROSSREF](#)
14. Kim GS, Lee DY, Lee SE, Noh HJ, Choi JH, Park CG, et al. Evaluation on extraction conditions and HPLC analysis method for bioactive compounds of *Astragali radix*. *Korean J Med Crop Sci* 2013; 21(6): 486-492.
[CROSSREF](#)
15. 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* 1985; 45(4): 1474-1478.
[PUBMED](#)
16. Chae KS, Son RH, Park SY, Kim KA, Lee TB, Kwon JW. Analytical method validation of ellagic acid as a marker compound for the standardization of black raspberry extract as a functional ingredient. *Food Eng Prog* 2014; 18(4): 355-358.
[CROSSREF](#)
17. Rivas M, Rojas E, Araya MC, Calaf GM. Ultraviolet light exposure, skin cancer risk and vitamin D production. *Oncol Lett* 2015; 10(4): 2259-2264.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
18. Svendby TM, Hansen GH, Bäcklund A, Dahlback A. Monitoring of the atmospheric ozone layer and natural ultraviolet radiation. Annual report 2018. Kjeller: Norwegian Institute for Air Research; 2019.
19. Yoon Y, Bae S, An S, Choe YB, Ahn KJ, An IS. Effects of ultraviolet radiation on the skin and skin cell signaling pathways. *Korean J Aesthet Cosmetol* 2013; 11(3): 417-426.
20. Mun YJ, Kim J, Lim NY, Lee SY, Seop G, Hwang CY, et al. Inhibitory effect on melanogenesis of *Radix glycyrrhizae* water extract. *J Physiol Pathol Korean Med* 2002; 16(6): 1230-1235.
21. Chen H, Zuo Y, Deng Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 2001; 913(1-2): 387-395.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
22. Jang TW, Park JH. Antioxidative activities and whitening effects of ethyl acetate fractions from the immature seeds of *Abeliophyllum distichum*. *J Life Sci* 2017; 27(5): 536-544.
[CROSSREF](#)
23. Vattem D, Shetty K. Biological functionality of ellagic acid: a review. *J Food Biochem* 2005; 29(3): 234-266.
[CROSSREF](#)
24. Yang HM, Lim SS, Lee YS, Shin HK, Oh YS, Kim JK. Comparison of the anti-inflammatory effects of the extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*. *Korean J Food Sci Technol* 2007; 39(3): 342-347.
25. Ortiz-Ruiz CV, Berna J, Tudela J, Varon R, Garcia-Canovas F. Action of ellagic acid on the melanin biosynthesis pathway. *J Dermatol Sci* 2016; 82(2): 115-122.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)