

Decaschistia intermedia Craib 추출물의 멜라닌 합성 억제 효능

임리진¹ · 추병삼² · 이상우³ · Bounleuane Douangdeuane⁴ · 송희상^{2,5*}

¹조선대학교 암악성화물연변이연구센터, ²조선대학교 대학원 의과학과, ³한국생명공학연구원 해외식물소재센터, ⁴라오스 보건부 전통의학연구소, ⁵조선대학교 의과대학 생화학교실

Inhibitory Effects of *Decaschistia intermedia* Craib Extract on Melanin Synthesis

Leejin Lim¹, Byeongsam Chu², Sang Woo Lee³, Bounleuane Douangdeuane⁴, and Heesang Song^{2,5*}

¹Cancer Mutation Research Center, Chosun University, Gwangju 61452, Korea

²Department of Biomedical Sciences, Chosun University Graduate School, Gwangju 61452, Korea

³International Biological Material Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 34141, Korea

⁴Institute of traditional medicine, Ministry of Health, Vientiane 116, Lao PDR

⁵Department of Biochemistry and Molecular Biology, Chosun University School of Medicine, Gwangju 61452, Korea

Abstract – The purpose of this study was to investigate the anti-melanogenic effects of the extracts from *Decaschistia intermedia* craib (EDI). In this study, we examined the effects of EDI on mushroom tyrosinase activity in *in vitro*, melanin contents, and expression levels of mRNA and proteins of melanogenesis-related genes in B16F10 melanoma cells. The treatment of EDI significantly decreased both tyrosinase activity and melanin contents in B16F10 cells with dose-dependent manner. In addition, we found that the expression of mRNA or proteins of melanogenic proteins, such as, α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH)-induced microphthalmia associated transcription factor (MITF), tyrosinase, tyrosinase related protein-1 (TRP-1), and TRP-2 was significantly downregulated with dose-dependent manner in the EDI-treated B16F10 cells compared to controls. Our results suggest that the EDI inhibits cellular melanogenesis through downregulation of α -MSH-stimulated melanin synthesis. Thus EDI may potentially be an effective whitening agent.

Keywords – *Decaschistia intermedia* craib, Melanin synthesis, Tyrosinase activity

피부와 머리카락의 색상을 결정짓는 중요한 인자로 알려진 melanin은 피부 속에 존재하는 갈색 또는 흑색을 띠는 고분자 색소이다.¹⁾ Melanin은 피부 각질층에 분포하는 melanocyte 내 melanosome에서 합성되는 단백질 복합체로서 자외선으로부터 빛에너지를 흡수하거나 산란시켜 피부 내 세포 또는 조직 손상을 억제하기 위한 역할을 하지만, 과도하게 생성된 melanin의 축적은 주근깨, 기미, 색소 침착 등의 과색소 현상을 유발하게 되는 것으로 알려져 있다.^{2,3)} 즉 melanin이 피부 속에 많을수록 피부색은 검으며, 주근깨, 기미 등의 다크 스팟은 melanin 색소가 한쪽 부위에 집중되어 모여 있는 것이고, 백반은 melanin 색소가 피부 전

체에 고르게 분포되어 있지 않으므로 생기는 비정상적인 melanin 합성 이상 반응이다. Melanin 생합성(melanogenesis)은 melanocyte에서 tyrosinase를 통해 일어나는 초기 반응을 시작으로, tyrosine을 3, 4-dihydroxyphenylalanin(DOPA) 물질로 변화시키고, 이후 DOPA oxidase 효소에 의해 DOPA-quinone, DOPA-chrome으로 연속 전환되어 최종적으로 melanin이 생성되는데, 이 과정에서 tyrosinase, tyrosinase-related protein-1(TRP-1), tyrosinase-related protein-2(TRP-2, dopachrome tautomerase) 등의 효소들이 연속적인 산화 반응을 촉매하여 melanin 합성에 관여한다.^{4,6)} 또한 여러가지 호르몬의 영향을 받는데, 그 대표적인 것이 뇌하수체 중엽로부터 분비되는 α -melanocyte stimulating hormone(α -MSH)으로, 이는 melanin 형성을 조절하는 전사인자인 microphthalmia-associated transcription factor(MITF)의 발

*교신저자(E-mail): hsong@chosun.ac.kr
(Tel): +82-62-230-6290

현을 증가시킴으로서, 이로 인해 melanin 생성, 세포증식 및 이동 등의 세포반응에 관여하는 다양한 유전자들이 활성화된다.^{7,8)} 이와 같이 melanin 생합성은 tyrosinase, TRP-1, TRP-2, MITF 등의 효소들이 작용하여 조절되는 복잡한 과정을 통해 이루어지는 것이다.⁹⁾ 따라서 미백효과를 검증하기 위해서는 tyrosinase 활성 억제를 통한 melanin 색소 침착의 방지 및 예방 여부 또는 melanin 생성 억제를 통한 기생된 melanin의 환원 및 탈색 여부를 증명하는 것이 중요하다.¹⁰⁾ 현재 tyrosinase의 활성을 억제하는 대표적인 미백제로 가장 많이 알려져 있는 것은 arbutin, ascorbic acid, hydroquinone, kojic acid, azelaic acid, linoleic acid 등이 있으나, 피부자극, 세포독성, 제형 안정성 등의 문제로 인한 인체 부작용이 대두됨에 따라, 제한된 양만 사용되고 있다.¹¹⁻¹³⁾ 따라서, 이러한 부작용으로부터 더욱 안전성 및 피부 친화력이 높아 효율적인 새로운 미백 소재를 탐색하기 위한 다양한 연구들이 진행되고 있으며, 특히 약용식물 등 천연 미백 소재에 대한 관심이 높아지고 있다.^{14,15)}

Decaschistia intermedia craib는 아욱과(Malvaceae family)에 속하는 식물로서, 열대에서 온대에 걸쳐 자라며, 특히 라오스, 태국, 캄보디아에 분포하는 초본, 관목 또는 교목이다. 개화기는 7-8월로서 동남아 일대에서는 오랫동안 민간 처방에 의해 피부질환 환자에게 피부에 대한 자극이 없는 천연 약재로 사용되어 왔다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 그러나, 과학적으로 정밀한 효능 연구는 미비한 실정이다. 본 연구자는 mushroom tyrosinase inhibition assay를 통한 스크리닝에 의해 *Decaschistia intermedia*(DI) 추출물의 높은 tyrosinase 활성 억제 효과를 확인함으로써, 이를 채택하여 좀 더 자세한 미백효과를 검증하기 위한 연구를 수행하였다.

본 연구에서는 마우스 흑색종 세포주(mouse B16F10 melanoma cells)를 사용하여 DI 추출물의 tyrosinase 활성 저해 효과 및 α -MSH에 의해 유도된 멜라닌 생성 억제 효과를 통한 미백 활성을 규명하여, 새로운 천연 미백 소재로서의 이용 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

세포배양 및 시약 - 본 실험에서 사용된 B16F10 마우스 흑색종 세포(B16F10 mouse melanoma cells)는 ATCC (Manassas, VA, USA)로부터 구입하여 10% FBS, 1% penicillin streptomycin을 첨가한 DMEM(WelGENE, KOREA)을 기본배지로 37°C, 5% CO₂ incubator에서 적응시키며 계대 배양하였다. 세포생존율 측정시약 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT solution), α -melanocyte stimulating hormone(α -MSH), L-tyrosine, mushroom tyrosinase, arbutin은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Microphthalmia-

associated transcription factor(MITF), tyrosinase, tyrosinase-related protein-1(TRP-1), tyrosinase-related protein-2(TRP-2) 항체는 Santacruz(CA, USA)에서 구입하여 사용하였다.

시료의 추출 및 분리 - 본 연구에 사용된 *Decaschistia intermedia* craib는 2014년 8월에 라오스의 남서부에 위치한 Champasak 지방, Khong 지역구의 Ban Chan 마을에서 수집한 꽃과 뿌리가 포함된 전초로서, 한국생명공학연구원(Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KRIBB)에서 확인하고, 추출물을 제조하였다. 전초 표본과 추출물은 한국생명공학연구원의 식물표본 database에 보존되어 있다(accession No. KRIB 0056020). 추출과정을 간략히 기술하면, *Decaschistia intermedia*의 건조시킨 전초 61 g을 99.9%(v/v) 메탄올 1 L에 45°C에서 3일(15분 sonication 후 2시간 정치, 10회/1일)동안 sonication을 이용하여 추출한 후 filter paper를 이용해 시료를 감압으로 여과하였다. EYELA evaporator(N-1000SWD, EYELA)로 감압 농축하여 용매를 완전히 제거한 후 증기열 건조기로 45°C에서 24 시간동안 건조하여 최종적으로 4.79 g의 분획을 얻었다. 이후 -4°C의 저온실에 보관하였으며 실험에 이용할 때 DMSO에 녹여 농도를 조정하여 사용하였다.

In Vitro Tyrosinase 저해 활성 측정 - 시험관내에서 DI 추출물, 정제된 tyrosinase 및 기질인 tyrosine을 반응시켜 tyrosinase 활성 저해에 대한 DI 추출물의 효과를 평가하는 방법을 통해 미백효과를 측정하였다. 시료로 사용된 DI 추출물(100 mg/ml로 stock)은 농도범위를 설정하여 DMSO에 희석하였다. 96-well plate에 0.1 M 인산염완충액(phosphate buffer, pH 6.5) 220 μ L, 농도별로 희석된 DI 추출물 20 μ L, 1,500 U/mL mushroom tyrosinase 20 μ L, 1.5 mM L-tyrosine 40 μ L을 순서대로 넣고 37°C에서 15분동안 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. DMSO를 공시료액으로 하여 보정하였으며, 양성 대조군으로 arbutin(1,000 μ g/mL)를 사용하였다. tyrosinase 활성 저해율은 아래 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Tyrosinase 활성저해율 (\%)} = 100 - \frac{b-b'}{a-a'} \times 100$$

a : 공시료액의 반응 후의 흡광도

b : 시료액의 반응 후의 흡광도

a', b' : Tyrosinase 대신 완충액으로 대체하여 측정된 흡광도

세포 생존율 측정 - 세포생존율 및 세포독성은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay 방법을 통하여 측정하였다. B16F10 세포를 96-well plate에 1×10^4 cells/well이 되도록 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양한 후, 시료를 농도별로 조절하여 처리하고 24시간동안 배양하였다. 대조군은 시료와 동량의 DMSO를 첨가하여 동일조건에서 배양하였다. 여기

에 0.5 mg/mL의 최종 농도로 MTT solution을 첨가하여 37°C에서 2시간동안 반응시킨 후, MTT solution이 포함된 media를 제거하고 각 well당 DMSO 200 μ L를 처리하여 살아있는 세포와 반응하여 생성된 formazan 침전물을 용해시켰다. 흡수분광광도계(spectrophotometer)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3번 수행하였으며, 이에 따른 평균값과 표준오차는 Microsoft Excel program을 이용하여 분석하였다.

Melanin 생합성 저해율 측정 - B16F10 세포를 6-well plate에 1×10^5 cells/well로 분주하여 24시간 배양 후 α -MSH(200 nM)와 DI 추출물을 농도별로 처리하여 48시간 동안 더 배양하였다. 이후 각 well의 배지를 모두 제거하고 PBS로 세척한 다음 trypsin-EDTA를 처리하여 세포를 micro tube에 회수한 후 10% DMSO가 첨가된 1 N NaOH 450 μ L를 처리하여 60°C에서 1시간동안 반응시켜 melanin을 완전히 용해시킨 다음 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Tyrosinase, TRP-1, TRP-2, MITF의 mRNA의 발현 측정 - B16F10 세포를 6-well plate에 1×10^5 cells/well로 분주하여 24시간 배양 후 α -MSH(200 nM)와 DI 추출물을 농도별로 처리한 다음 24시간 후 Trizol reagent(QIAGEN, Germantown, MD, USA)을 사용하여 Total RNA를 추출하였다. HelixCript™ First-Strand cDNA Synthesis Kit (NanoHelix, KOREA)를 사용하여 cDNA를 합성한 다음, RealHelix™ qPCR kit(NanoHelix, KOREA)를 사용하여 진행한 Real-time qPCR은 Applied Rotor-Gene 3000™ (Corbett Research, Sydney, AU) 분석 장비로 수행되었다. 조건은 95°C에서 15분간 예비가열 후, 95°C에서 30초 Denaturation, 60°C에서 30초 Annealing, 72°C에서 30초 Extension 과정을 40회 반복하였으며, 72°C에서 10분간 더 반응시켰다. qPCR에 사용된 primer 서열은 Table I과 같다.

Tyrosinase, TRP-1, TRP-2, MITF의 단백질 발현양 측정 - B16F10 세포를 6-well plate에 1×10^5 cells/well로 분주

하여 24시간 배양 후 α -MSH(200 nM)와 DI 추출물을 농도별로 처리한 다음 48시간 후 배지를 제거하고 PBS로 2번 세척하여 세포를 모은 다음 RIPA buffer로 용해하고 14,000 rpm에서 원심분리하여 단백질을 분리하였다. 단백질의 농도는 Bradford protein assay kit(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용해 정량하여 각 샘플 40 μ g의 단백질을 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 전기영동하고, polyvinylidene difluoride membrane(PVDF, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)으로 이동시킨 후 5% skim milk로 상온에서 1시간동안 blocking하고 1차 antibody를 4°C에서 overnight으로 반응시켰다. 이때 사용된 1차 antibody는 다음과 같은 조건으로 사용되었다. MITF(1:100 dilution), tyrosinase(1:100 dilution), TRP-1 (1:400 dilution), TRP-2(1:100 dilution). 이후 Tris-buffered saline-Tween 20(TBS-T, 0.1% Tween 20)으로 3회 세척하여 2차 antibody를 1시간동안 붙인 다음 3회 세척 후 enhanced chemiluminescence reagent(ECL, BIONOTE, Animal Genetics Inc., Tallahassee, FL, USA)를 이용하여 단백질 발현양을 확인하였다.

통계분석 - 본 연구의 모든 실험 결과는 3회 반복실험을 실시하여 평균과 표준편차로 나타내었으며, 각 실험 결과의 통계적 유의성 검정은 Student's t-test를 사용하면서 ANOVA 검정을 적용하였으며, $p < 0.05$ 일때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

결과 및 고찰

DI 추출물의 Mushroom Tyrosinase 활성 저해 효과 - Tyrosinase는 인체내의 melanin 생합성 경로에서 필수적이며 가장 중요한 초기 속도결정단계에 관여하는 효소로서, 이 효소의 활성 저해는 멜라닌 생성을 저해하게 되는 것을 나타낸다. 따라서 본 시험은 melanin 생성 이전에 참여하는

Table I. The sequence of primers used for real-time quantitative PCR

Gene	Primer sequence (5'-3')	Amplification size (bp)
TRP-1	For: GCT GCA GGA GCC TTC TTT CTC	268
	Rev: AAG ACG CTG CAC TGC TGG TCT	
TRP-2	For: GGA TGA CCG TGA GCA ATG GCC	218
	Rev: GGA TAC TCT TCT TGG CCA GG	
MITF	For: GTA TGA ACA CGC ACT CTC	217
	Rev: GCT GGA CAG GAG TTG CTG AT	
Tyrosinase	For: ACA TTT TTG ATT TGA GTG TC	239
	Rev: GGC AAA ATC AAT GTC CCT CC	
GAPDH	For: CAC CAT CTT CCA GGA GCG AG	253
	Rev: GGC TAA GCA GTT GGT GGT GC	

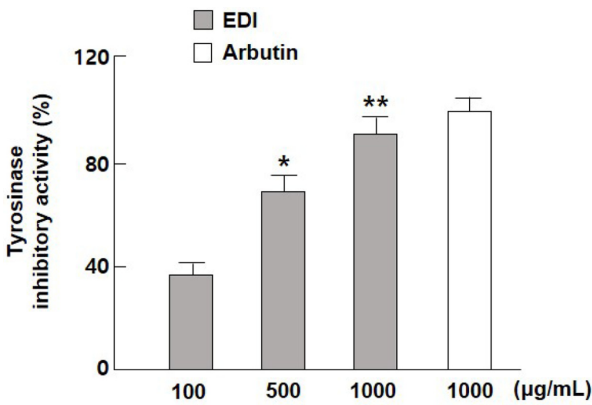


Fig. 1. Effect of the extracts from *Dechaschistia intermedia* (EDI) on mushroom tyrosinase activity. These were measured by absorbance at 490 nm after incubation with various concentration of EDI. Data were obtained from at least triplicate experiments and expressed as mean ± S.D. * $p < 0.05$ or ** $p < 0.01$ vs. control.

tyrosinase 활성 저해 정도를 측정함으로써, 시험시료의 미백 효과를 평가하는 방법이다.¹⁹⁾ DI는 한국생명공학연구원 내 해외식물소재센터(Daejeon, KOREA)의 피부과 식물로 분류된 식물 추출물 표본 50여종 중에 포함된 것으로, 본 연구자는 공급받은 50여종에 대해 mushroom tyrosinase inhibition assay에 의한 스크리닝을 통해 DI 추출물의 높은 tyrosinase 활성 억제 효과를 확인하였다(data not shown). 즉, DI 추출물에 의한 tyrosinase 활성 저해 효과를 확인하기 위해 mushroom tyrosinase에 의한 L-tyrosine의 산화 정도를 측정하였다. Fig. 1에서 보이는 바와 같이, DI 추출물의 tyrosinase 활성 저해 효과는 농도 의존적으로 증가하였

다. 양성대조군인 Arbutin과 비교시 1,000 µg/mL의 농도에서 90% 이상의 현저한 억제를 보이고 있음을 확인하였다. 이와 같은 결과는 DI 추출물이 tyrosinase의 효소 활성을 감소시키므로, melanin 생성 억제에 직접적으로 관여할 수 있는 가능성을 보여주는 것이다.

DI 추출물의 세포 독성 확인 - DI 추출물에 의한 세포 독성을 확인하기 위해 추출물을 농도별로 세포에 처리하여 MTT assay를 실시하였다. DI 추출물을 24시간 동안 처리한 후에 세포 생존율을 확인한 결과, 200 µg/mL의 농도까지 세포 생존율이 94% 이상으로 세포 독성이 나타나지 않았으나, 그 이상의 농도에서 세포 독성을 보이는 것을 확인하였다(Fig. 2A). 1,000 µg/mL의 농도에서 60% 이상의 세포 독성을 보이므로, B16F10 세포를 이용한 추가 실험에서는 세포 독성을 보이지 않는 200 µg/mL 이하의 농도에서 실험을 진행하였다.

DI 추출물의 세포내 Melanin 생성 억제 효과 - 외부 자극에 의한 B16F10 세포의 과색소 침착에 대해 DI 추출물이 영향을 미치는지 확인하기 위하여, α-MSH(200 nM)를 함께 처리하여 실험을 진행하였다. α-MSH를 단독으로 처리한 세포에서 melanin 생성이 증가하였으며, DI를 함께 처리한 경우에 추출물의 농도가 증가할수록 melanin 생성이 유의하게 억제되는 것을 확인하였다(Fig. 2B). 또한 DI 추출물을 200 µg/mL 농도로 처리하였을 때 미백제로 알려진 양성대조군인 arbutin과 비교하였을 때 유의한 수준으로 높은 억제 활성을 나타내었다. 따라서 DI 추출물의 melanin 저해 활성이 우수함을 확인하였다.

멜라닌 합성에 관여하는 단백질의 mRNA 및 단백질 발현 억제 효과 - Melanin은 세포내 복잡한 신호전달 기전을

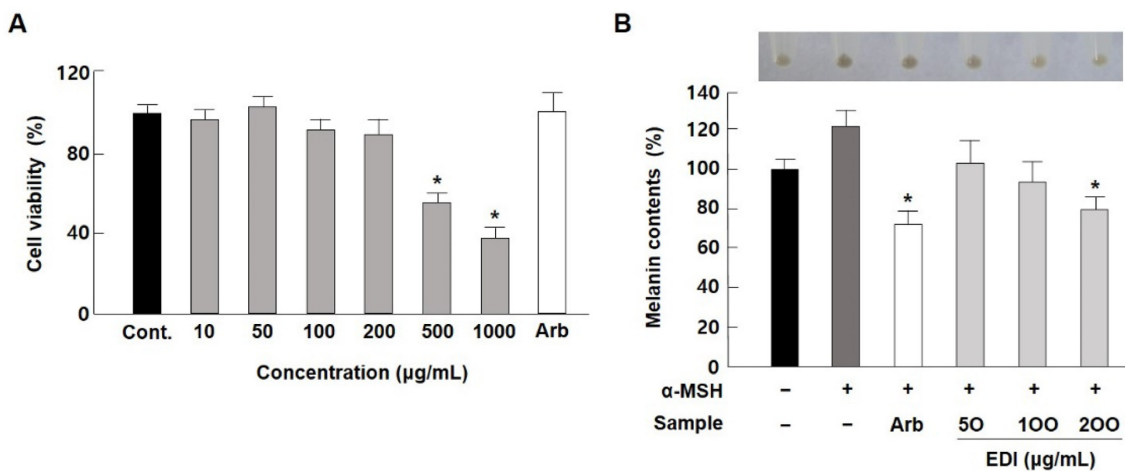


Fig. 2. Effects of EDI on cell viability and melanin contents in B16F10 cells. (A) Cytotoxic effect of EDI was evaluated after 24h using MTT assay. (B) Melanin contents were measured in α-MSH- (200 nM) or EDI-treated B16F10 melanocytes. Arbutin (Arb) was used as positive control (500 µg/mL). Values are presented as mean ± S.D. * $p < 0.05$ compared to the group treated with α-MSH.

통해 합성되는데, 이 과정에서 tyrosinase, TRP-1 and TRP-2 효소의 산화적 촉매반응에 의해 조절된다.^{5,20} 또한 MITF는 다양한 표적 DNA의 특이적 염기서열에 결합하여 세포 증식 및 이동, 분화, 중앙형성 등과 같은 세포 반응을 유도할 뿐만 아니라 melanin 생성에 필수적인 tyrosinase, TRP-1, TRP-2의 전사를 조절하여 α -MSH의 분화를 매개하는 중요한 전사인자로 잘 알려져 있으므로, 이러한 MITF의 억제제는 tyrosinase의 억제를 통해 melanin 생성을 막을 수 있다.^{8,21,22}

본 연구에서는 DI 추출물이 α -MSH 자극에 의해 유도된 melanin 생성을 억제시키는 효과를 확인함에 따라 이러한 생성 억제 효과가 melanin 관련 단백질의 발현을 억제하는 것에 기인한 것인지 확인하기 위해 melanin 관련 단백질로 알려진 TRP-1, TRP-2, Tyrosinase, MITF의 발현을 mRNA 및 단백질 수준에서 qPCR 및 Western blot을 수행하여 평가하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이, α -MSH에 의해 증가된 MITF, Tyrosinase, TRP-1, TRP-2 mRNA 발현이 DI 추출물에 의해 현저히 감소되는 것을 확인하였다. 또한 α -MSH를 단독 처리한 경우 각 단백질의 발현이 증가하였으며, α -MSH에 의해 증가된 각 단백질의 발현이 DI 추출물

에 의해 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 4). 특히 TRP-1과 TRP-2의 발현은 DI 추출물 200 μ g/mL의 농도에서 양성대조군인 Arbutin과 비교하였을 때, 현저히 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과들은 DI 추출물이 melanin 합성에 관여하는 유전자의 발현 조절을 통해 melanin 생성을 억제하는 것으로 보인다. 따라서 DI 추출물에 의한 melanin 생합성의 신호전달 기전은 추가적인 연구가 필요하다.

결론

본 연구는 한국생명공학연구원 해외생물소재센터의 50여 가지 식물 추출물들의 스크리닝을 통해 결정된 DI 추출물의 미백에 대한 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 확인하고자 수행되었다. Tyrosinase inhibition assay를 통해 DI 추출물의 tyrosinase 저해 효과를 확인한 결과, 양성대조군인 arbutin 대비 90% 이상의 억제 효과를 확인하였으며, 농도 의존적으로 tyrosinase 활성을 저해하였다. MTT assay를 통한 DI 추출물의 세포 독성을 측정된 결과에서 200 μ g/mL 이하의 농도에서는 세포 독성이 나타나지 않았다. α -MSH

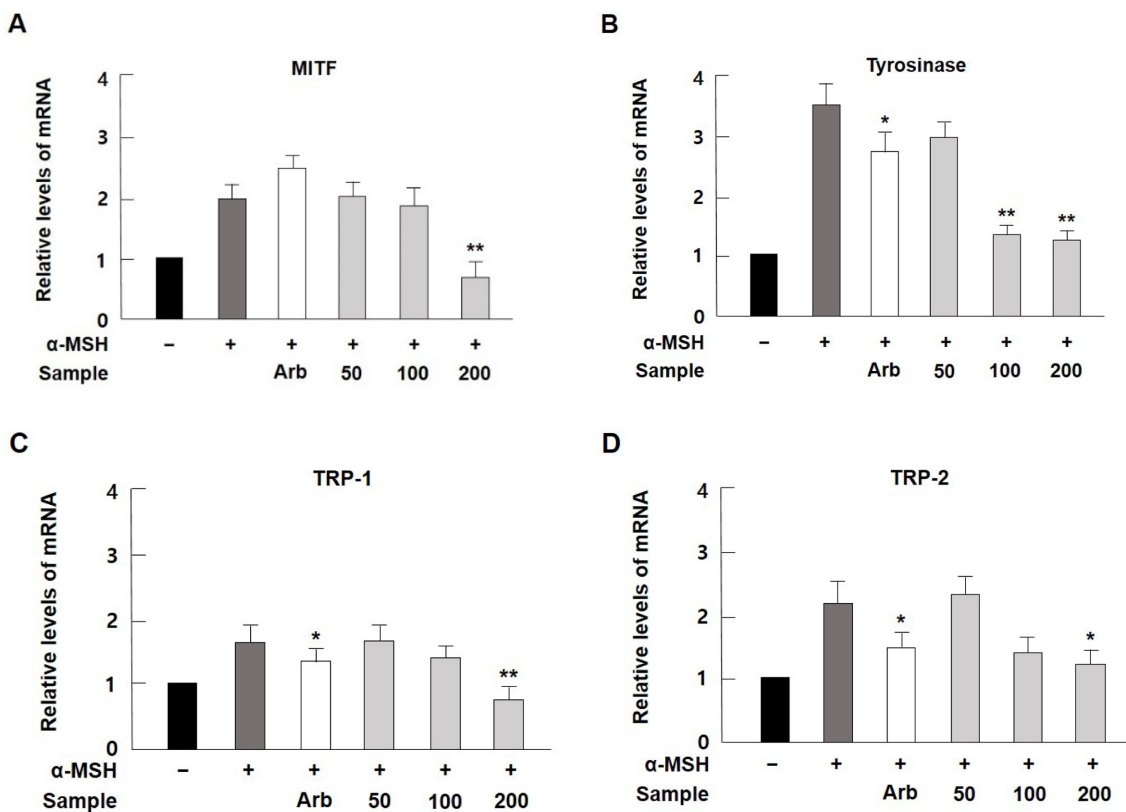


Fig. 3. Effects of EDI on mRNA expression levels of melanogenesis-related genes in α -MSH-stimulated B16F10 cells. The mRNA levels of MITF, Tyrosinase, TRP-1, and TRP-2 were quantified by qPCR (n=3). Gene expression was normalized against to GAPDH. Values are presented as mean \pm S.D. * p <0.05 or ** p <0.01 vs. control.

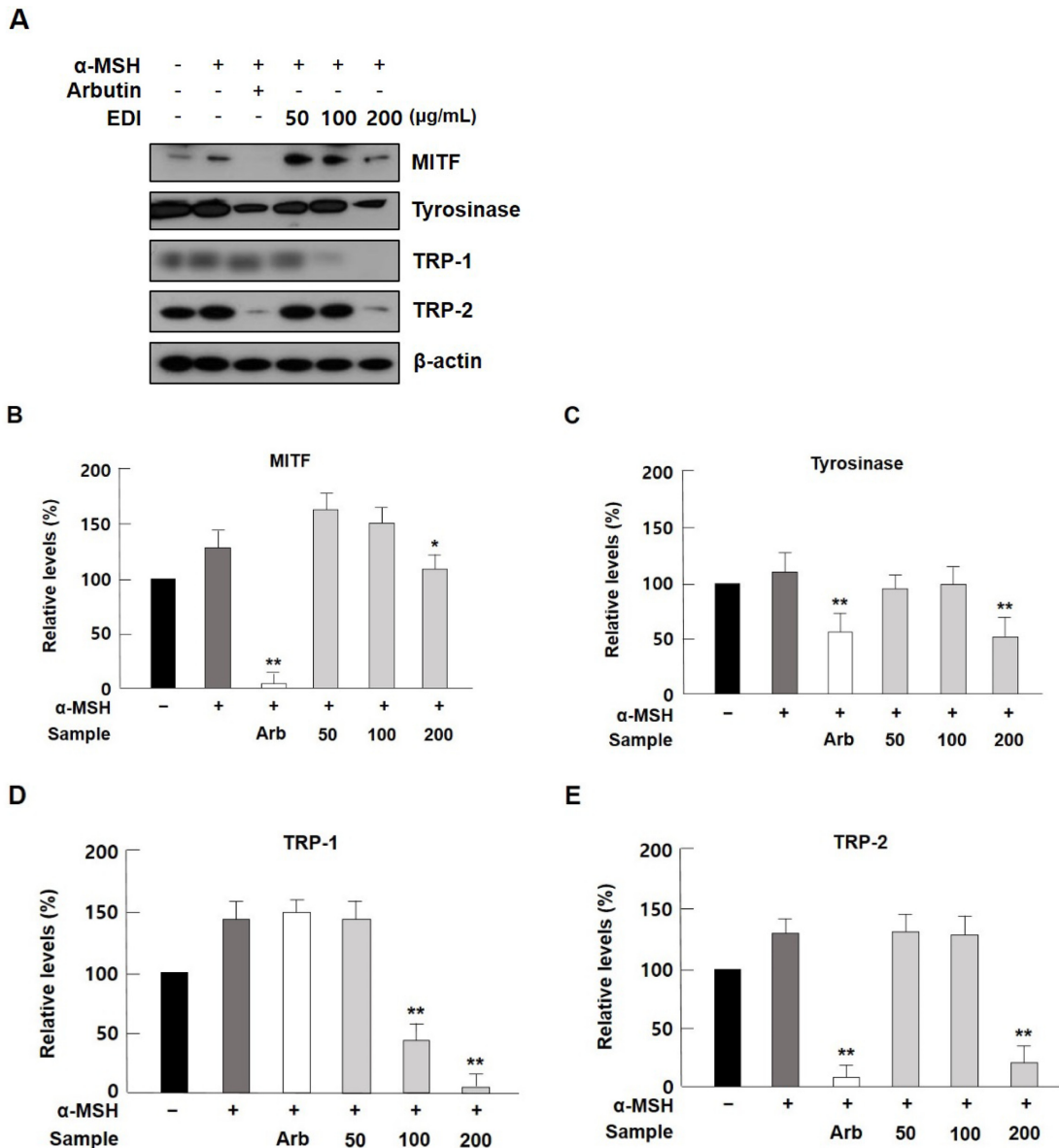


Fig. 4. Effects of EDI on expression levels of melanogenesis-related proteins in α -MSH-stimulated B16F10 cells. The protein expression of MITF, Tyrosinase, TRP-1, and TRP-2 were analyzed by western blot (n=3). Protein levels were normalized against to β -actin. Values are presented as mean \pm S.D. * p <0.05 or ** p <0.01 vs. control.

자극에 의해 유도된 melanin 생성 억제 효과를 확인하기 위해 B16F10 세포에 α -MSH와 DI 추출물을 처리하여 melanin assay를 측정할 결과에서도 DI 추출물의 농도 의존적으로 melanin 생성이 유의하게 억제되었다. 또한, melanin 생합성 관련 단백질로 알려진 유전자 발현을 mRNA 및 단백질 수준에서 확인한 결과, MITF, tyrosinase, TRP-1, TRP-2와 같은 melanin 생합성 관련 효소들의 mRNA 및 단백질 발현이 DI 추출물에 의해 농도 의존적으로 감소하였으며, 양성 대조군인 arbutin 대비 유사하게 또는 현저히 감소되었다. 이러한 결과들을 통해 DI 추출물에 의한 tyrosinase 저해 활

성 및 melanin 생합성 억제 효과를 확인함에 따라 미백 관련 기능성 화장품 소재로서 가능성이 매우 높음을 보여주었다. 따라서 DI는 피부의 melanin 색소 침착 저해 및 개선의 효과가 탁월한 원료로서 미백 기능성 천연 화장품 개발에 매우 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 2020학년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 수행되었음.

인용문헌

1. Bonaventure, J., Domingues, M. J. and Larue, L. (2013) Cellular and molecular mechanisms controlling the migration of melanocytes and melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res.* **26**: 316-325.
 2. Gilchrist, B. A. and Eller, M. S. (1999) DNA photodamage stimulates melanogenesis and other photoprotective responses. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* **4**: 35-40.
 3. Sugumaran, M. (2002) Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and melanin in insects. *Pigment Cell Res.* **15**: 2-9.
 4. Hyun, C. G., Kim, M. J., Kim, S. Y., Hyun, K. H., Kim, D. S. and Kim, S. Y. (2017) Antimelanogenic of *Artemisia fukudo* Makino extract in melanoma cells. *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.* **32**: 233-237.
 5. D'Mello, S. A., Finlay, G. J., Baguley, B. C. and Askarian-Amiri, M. E. (2016) Signaling pathways in melanogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* **17**: 1144.
 6. Nakajima, H., Wakabayashi, Y., Wakamatsu, K. and Imokawa, G. (2011) An extract of *Withania somnifera* attenuates endothelin-1-stimulated pigmentation in human epidermal equivalents through the interruption of PKC activity within melanocytes. *Phytother. Res.* **25**: 1398-1411.
 7. Bang, M. A., Shin, B. Y., Jung, B. R., Jung, J. G and Cho, S. S. (2017) Inhibitory effects on melanin production in B16 melanoma cells of fallen pear. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* **46**: 320-326.
 8. Goding, C. R. (2000) Mitf from neural crest to melanoma: signal transduction and transcription in the melanocyte lineage. *Genes Dev.* **14**: 1712-1728.
 9. Costin, G. E. and Hearing, V. J. (2007) Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *Faseb. J.* **21**: 976-994.
 10. Brown, D. A. (2001) Skin pigmentation enhancers. *J. Photochem. Photobiol. B* **63**: 148-161.
 11. Battaini, G., Monzani, E., Casella, L., Santagostini, L. and Pagliarin, R. (2000) Inhibition of the catecholase activity of biomimetic dinuclear copper complexes by kojic acid. *J. Biol. Inorg. Chem.* **5**: 262-268.
 12. Chou, S. T., Chang, C. T., Chnag, W. L., Hsu, J. C. and Shih, Y. (2013) Chemical composition and tyrosinase inhibitory activity of *Cinnamomum cassia* essential oil. *Bota. Stud.* **54**: 10-17.
 13. Park, S. K., Chang, M. S., Kim, H. M., Yang, W. M., Kim, D. R., Park, E. H., Ko, E. B., Choi, M. J., Kim, H. Y., Oh, J. H., Shim, K. J. and Yoon, J. W. (2007) Inhibitory effects of *Nelumbo nucifera* on tyrosinase activity and melanogenesis in clone M-3 melanocyte cells. *Kor. J. Herbol.* **22**: 87-94.
 14. Zhu, W. and Gao, J. (2008) The use of botanical extracts as topical skin-lightening agents for the improvement of skin pigmentation disorders. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* **13**: 20-24.
 15. Kim, Y. M., Kim, G. Y., Lee, S. J., Jeon, M. J., Kim, B. M., Kim, G. T., Kang, S. M., Lee, K. Y., Shin, E. J. and Kim, S. Y. (2018) The evaluation of niacinamide-dipeptide convergence as skin whitening materials. *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.* **33**: 19-25.
 16. Phuphathanaphong, L. (1999) *Decaschistia* (Malvaceae) in Thailand. *Thai Forest Bulletin (Botany)* **27**: 83-85.
 17. Craib, W. G. (1915) Contributions to the Flora of Siam, Additamentum VIII, *Bulletin of Miscellaneous Information* **10**: 419-433.
 18. Santisuk, T., Chayamarit, K. and Balslev, H. (2019) Flora of Thailand 14 (part 2), pp.279-282. Royal Forest Department, Bangkok, Thailand.
 19. Ishihara, Y., Oka, M., Tsunakawa, M., Tomita, K., Hatori, M., Yamamoto, H., Kamei, H., Miyaki, T., Konishi, M. and Oki, T. (1991) Melanostatin, a new melanin synthesis inhibitor. Production, isolation, chemical properties, structure and biological activity. *J. Antibiot.* **44**: 25-32.
 20. Yamaguchi, Y. and Hearing, V. J. (2009) Physiological factors that regulate skin pigmentation. *Biofactors* **35**: 193-199.
 21. Goding, C. R. (2007) Melanocytes: the new Black. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **39**: 275-279.
 22. Branza-Nichita, N., Negroiu, G., Petrescu, A. J., Garman, E. F., Platt, F. M., Wormald, M. R., Dwek, R. A. and Petrescu, S. M. (2000) Mutations at critical N-glycosylation sites reduce tyrosinase activity by altering folding and quality control. *J. Biol. Chem.* **275**: 8169-8175.
- (2020. 7. 6 접수; 2020. 8. 24 심사; 2020. 9. 8 게재확정)