

환초석곡 메탄올 추출물의 흑색종세포주에서 멜라닌 생성 억제 효능

정호경* · 장지훈* · 심미옥* · 이기호* · 여준환* · 강병만* · 조정희* · 빈철구** · 김성철*** · 정원석*†

*전남한방산업진흥원, **경상남도농업기술원, ***농촌진흥청 국립원예특작과학원 남해출장소

Effect of *Dendrobium loddigesii* Rolfe Methanol Extract on Melanogenesis in α -MSH Stimulated B16F10 Cells

Ho Kyung Jung*, Ji Hun Jang*, Mi Ok Sim*, Ki Ho Lee*, Jun Hwan Yeo*, Byoung Man Kang*, Jung Hee Cho*, Chul Gu Bean**, Seong Cheol Kim*** and Won Seok Jung*†

*Jeollanamdo Development Institute of Traditional Korean Medicine, Jangheunggun 529-851, Korea.

**Research Institute, Gyeongsangnamdo Agricultural Research and Extension Services, Changwon 641-920, Korea.

***Namhae Sub-Station, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Namhae 668-812, Korea.

ABSTRACT : *Dendrobium loddigesii* (DL) is a valuable and versatile herbal medicine with the anecdotal claims of anti-oxidant and anti-inflammation. In the present study, we investigated the whitening effects of DL under various conditions with B16F10 melanoma cells. The DL extract inhibited melanin contents and tyrosinase activity in a dose-dependent manner, compared with untreated group. Treatment of the DL extract effectively suppressed the α -MSH-stimulated melanin formation, tyrosinase activity and dendrite outgrowth. Moreover, the α -MSH-induced mRNA expressions of tyrosinase-related protein-1 (TRP-1), tyrosinase-related protein-2 (TRP-2), microphthalmia-associated transcription factor (MITF) and protein expression of tyrosinase were significantly attenuated by DL treatment. These results indicate that DL may be a great cosmeceutical ingredient for its whitening effects.

Key Words : *Dendrobium loddigesii*, Whitening, Melanin, Tyrosinase

서 언

환초석곡 (*Dendrobium loddigesii*)은 난초과에 속한 다년생 초본으로, 국내에서는 대한민국약전 외 한약 (생약) 규격집에 석곡으로 수재되어 있으며 한의학에서 주로 익위생진 (益胃生津), 자음청열 (滋陰淸熱) 등의 효능으로 주로 위중허열 (胃中虛熱)을 없애주고 열병 (熱病) 및 번갈 (煩渴)에 사용되어왔다 (Kim *et al.*, 2005). 최근 중국이나 일본 대만 등 동아시아 국가에서 환초석곡의 약리활성을 밝히는 다양한 연구가 진행되어 환초석곡에서 분리된 phenanthrene계 loddigesiinols A - D에서 nitric oxide (NO) 저해능과 DPPH 라디칼 소거능이 있음이 밝혀졌으며 (Ito *et al.*, 2010), loddigesiinol G - J에서 제2형 당뇨병에 관련된 α -glucosidase 억제에 관한 연구가 보고되어 있고 (Lu *et al.*, 2014), moscatilin에서 항암효과가 연

구되었다 (Tsai *et al.*, 2010). 또한, 줄기에서 shihunidine, shihunine, dendrophenol 성분의 동정에 관한 연구와 쥐의 신장에 Na^+ , K^+ -ATPase 억제효능에 대한 보고가 있다 (Li *et al.*, 1991). 그리고 *Dendrobium* 속 식물들은 많은 생리 활성 성분이 확인되었으며 (Ye *et al.*, 2002), 다당류는 면역 및 간 보호 활동과 알칼로이드는 항산화, 항암, 및 신경 활동을 나타내며, 기타 화합물들은 항산화, 항암 및 면역 등의 작용이 있다고 알려져 있다 (Choi *et al.*, 2002; Ng *et al.*, 2012). 환초석곡에서 이와 같은 다양한 약리적 효능이 밝혀졌지만, 아직까지 미백에 대한 효능은 밝혀져 있지 않다.

멜라닌은 사람의 피부색을 결정하는 주요 인자 중 하나로서 생물체에 널리 분포되어 있는 색소이며 피부의 표피층에 존재하는 melanocyte에서 합성된다 (Ando *et al.*, 2012; Seiberg, 2001). 멜라닌 합성은 아미노산의 하나인 tyrosine을 기질로

†Corresponding author: (Phone) +82-61-860-2812 (E-mail) i0823@nate.com

Received 2015 June 8 / 1st Revised 2015 July 1 / 2nd Revised 2015 July 10 / 3rd Revised 2015 July 22 / Accepted 2015 July 22

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.

tyrosinase, tyrosinase related protein-1 (TRP-1), tyrosinase related protein-2 (TRP-2, DCT)에 의해 3,4-dihydroxy-phenylalanine (DOPA)를 거쳐 DOPA quinone으로 전환되고 붉은 계열의 eumelanin과 갈색계열의 pheomelanin이 합성된다 (Fig. 1). Microphthalmia-associated transcription factor (MITF)는 TRP-1, TRP-2의 eumelanin 합성을 조절하는 중요한 역할을 하는 신호전달 경로이며 멜라닌 형성에 관여하는 효소들의 발현을 조절하는 것으로 잘 알려져 있다 (Bentley *et al.*, 1994; Hemesath *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2011; Olivares and Solano, 2009; Wu *et al.*, 2000).

현재 arbutin, kojic acid, linoleic acid를 포함하는 많은 tyrosinase 저해제가 의약부외품과 기능성 화장품의 미백 원료로 광범위하게 사용되고 있으나, 의학계나 화장품업계에서는 피부 안정성, 제형 안정성 등의 문제로 제한된 양만 사용되고 있다 (Chun *et al.*, 2002; Seo *et al.*, 2003). 따라서 안전성이 높은 천연성분을 이용한 기능성 제품 개발이 요구되고 있으며 (Park *et al.*, 2013a), 미백에 관한 천연물 소재로는 황칠나무 (*Dendropanax moribifera*) 잎 추출물의 항산화 및 미백활성 (Park *et al.*, 2013b), 초음파 처리 미선나무 (*Abeliophyllum distichum*) 에탄올 추출물의 항산화 및 미백효과 (Kim and Lee, 2015), 미역쇠 (*Endarachne binghamiae*) 추출물의 멜라닌 생성 억제 효과 (Jeon *et al.*, 2013), 오이추출물의 tyrosinase 억제활성 (Yang and Boo, 2013), 한약재 174종의 methanol 추출물로부터 tyrosinase활성 억제 효과 (Seo, 2001)에 관한 보고가 있다.

이에 본 연구에서는 환초석곡의 추출물을 활용하여 미백효능을 평가하여 향후에 제품화 소재로 이용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

환초석곡 (*Dendrobium loddigesii*)은 충북 진천 석곡농원에서 구입하여 전남한방산업진흥원 유리온실에서 평균온도 24°C 직사광선 차광조건에서 생육시켜 환초석곡 줄기 길이가 40 cm 이상이 된 것을 선별하여 줄기와 잎을 잘라 수세 후 50°C로 열풍건조기를 이용하여 일주일간 건조하였다. 그 후 건조된 환초석곡 시료를 분쇄기를 이용하여 균일하게 분쇄한 후 MeOH를 칭량한 시료무게의 10배를 넣고 60°C 환류냉각으로 3시간, 3회 반복하여 추출물을 제조하였다. 이 추출물을 감압농축기 (NE-1001V, Eyela, Tokyo, Japan)로 농축하여 완전히 용매를 제거한 시료를 실험 목적에 맞춰서 용매에 녹여 실험에 사용하였다.

2. 시약

Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM)과 fetal

bovine serum (FBS), penicillin, streptomycin, Medium 106, Low Serum Growth Supplement는 Gibco/BRL (Eggenstein-Leopoldshafen, Germany)에서 구입하였고, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS, CellTiter 96Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay)는 Promega (Madison, WI, USA)에서 구입하였다. α -MSH와 L-DOPA, arbutin, 합성멜라닌은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, Tyrosinase antibody는 Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Dallas, TX, USA), Gapdh antibody는 Cell Signaling Technology, Inc. (Danvers, MA, USA)에서 구입하였다.

3. 세포주 및 세포배양

B16F10 melanin 세포주는 한국세포주은행 (KCLB, Seoul, Korea)에서 분양 받아 10% fetal bovine serum (FBS)이 첨가된 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM)을 사용하였고, CO₂배양기 (MCO-17A1, Sanyo, Osaka, Japan)에서 온도 37°C, 5% CO₂조건에서 배양하였다.

4. 세포 독성 측정

B16F10 세포를 96-well plate에 5×10^3 cells/well로 세포를 분주하여 24시간동안 세포를 안정화 시킨 뒤에 환초석곡시료를 농도별로 처리를 하였다. 24시간 배양을 한 뒤에 MTS 용해액을 세포배양액 용액의 1/10을 첨가한 후 37°C에서 2시간 배양하였다. ELISA microplate reader (Infinite 200 pro, TECAN, Grödig, Austria)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. 세포 내 tyrosinase activity 측정

B16F10 세포를 6-well plate에 5×10^4 cells/well로 세포를 분주하여 24시간동안 세포를 안정화 시킨 뒤에 arbutin 100 μ g/ml과 환초석곡시료를 농도별로 10, 50, 100, 200 μ g/ml 처리를 하였고 1시간 뒤에 α -MSH를 100 nM이 되게 처리를 한 뒤에 72시간 동안 배양을 하였다. PBS로 2회 세척을 하고 RIPA protein lysis buffer을 처리를 한 후에 4°C에서 30분 동안 incubation을 하였다. 4°C에서 13000 rpm으로 30분 동안 원심분리 후 단백질이 포함된 상층액만을 대상으로 하여 tyrosinase activity를 측정하였다. 단백질 양은 Bradford 정량법 (Bradford, 1976)을 통해 ELISA microplate reader (Infinite 200 pro, TECAN, Grödig, Austria)를 이용하여 595 nm에서 측정하였고 동일한 단백질을 이용해서 L-DOPA를 처리를 하여 540 nm 흡광도로 세포내 tyrosinase activity를 측정하였다.

6. Melanin 측정 및 관찰

B16F10 세포에 60 mm 세포배양접시에 5×10^4 cells/well로

Table 1. Taqman gene-specific probes.

Experimental purposes	Gene symbol	Gene description	TaqMan gene expression assay number	Reference sequence
Whitening	MITF	microphthalmia-associated transcription factor	Mm00434954_m1	nm_001113198.1
	TRP1	tyrosinase-related protein 1	Mpm00453201_m1	nm_001282014.1
	DCT (TRP2)	dopachrome tautomerase	Mm01225584_m1	nm_010024.3
	HPRT	hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (reference gene)	Mm01545399_m1	nm_013556.2

세포를 분주하여 arbutin 100 $\mu\text{g/ml}$ 과 환초석곡추출물을 α -MSH (100 nM)보다 1시간이전에 처리를 하고 72시간동안 배양을 하였다. 그 후에 PBS로 2회 세척하고 Trypsin-EDTA를 처리하여 세포를 수확한 뒤 3000 rpm에 5분 동안 원심분리하여 세포를 모으고 상층액을 제거한 후 10% dimethylsulfoxide (DMSO)가 첨가된 1N NaOH용액을 처리하여 80°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액을 대상으로 ELISA microplate reader (Infinite 200 pro, TECAN, Grödig, Austria)를 이용하여 410 nm에서 각각의 흡광도를 측정하였으며 멜라닌 양은 합성 melanin을 기준으로 하여 작성된 표준곡선에서 멜라닌을 정량하였다.

7. Real-time PCR을 통한 미백관련 유전자 발현

미백관련 유전자 발현을 확인하기 위해서 B16F10 세포를 60 mm 세포배양접시에 1×10^5 cells/well로 세포를 분주한 후 24시간 배양한다. 환초석곡추출물을 다양한 농도로 1시간 동안 처리 한 뒤 α -MSH (100 nM)로 melanin 생성을 유도하여 24시간동안 배양을 하고 PBS로 2회 세척 후 세포를 수확하였다. 수확한 세포는 Tripure Isolation Reagent (Roche, Basel, Switzerland)를 이용하여 RNA를 분리하였다. 5 μg 의 mRNA (total RNA)를 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 실험은 제조사 매뉴얼에 따라 수행하였다. 합성된 cDNA 1 μl , taqman primer 1 μl , Taqman Universal Master Mix II (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) 10 μl , 3차 증류수 8 μl 를 넣고 Real-time PCR기 (ABI7500, Applied Biosystem, Foster City, CA, USA)를 이용하여 PCR을 수행하였다. 정량 증합 효소 반응에 쓰인 TaqMan gene은 <http://www.lifetechnologies.com/kr/ko/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-assays.html>에서 검색하여 주문 후 사용하였고 분석하고자 하는 유전자 특이적 gene의 정보는 Table 1에서 나타내었다. 또한 real-time PCR 반응 조건은 50°C에서 2분, 95°C에서 10분 동안 1회 수행하

고, 변성 온도 95°C에서 15초 annealing 온도 60°C에서 15초로 40회 반복 수행하였다.

8. 면역학적 블로팅 (Immunoblotting) 분석

Western blot을 이용하여 tyrosinase 단백질의 발현 정도를 분석하였다. PAD 시료를 농도별로 처리한 실험군과 대조군을 24시간 배양 후 62.5 mM Tris-HCl (pH 6.8), 2% SDS, 5% β -mercaptoethanol, 2 mM phenyl-methylsulfonyl fluoride, protease inhibitors (Roche, Mannheim, Germany), 1 mM Na_3VO_4 , 50 mM NaF과 10 mM EDTA을 함유하는 완충제를 사용하여 세포를 용해시켰다. 세포 용해액을 15,000 g로 4°C에서 30분간 원심 분리하여 단백질만 포함하고 있는 상층액만을 얻었다. 정량한 단백질 20 μg 을 10% SDS-PAGE에 전기 영동시킨 후 PVDF (polyvinylidene difluoride) membrane (BIO-RAD, Richmond, CA, USA)으로 옮겼다. 그리고 membrane의 blocking은 5% bovine serum albumin (BSA)이 함유된 TTBS (0.1% Tween 20 + TBS) 용액을 상온에서 2시간 동안 실시한 다음 tyrosinase, GAPDH및 대한 1차 항체와 반응시킨 후 2차 항체인 horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit 또는 anti-mouse IgG를 반응시키고 ECL detection reagents (Millipore, Billerica, MA, USA)를 사용하여 단백질의 발현정도를 확인하였다.

9. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 평균치 \pm 표준편차 (means \pm SD)로 나타내었으며, 대조군과 각 실험군과의 평균 차이는 student's *t*-test로 분석하여 *p*-value 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 환초석곡 메탄을 추출물의 세포독성

환초석곡 (*Dendrobium loddigesii*) 메탄을 추출물의

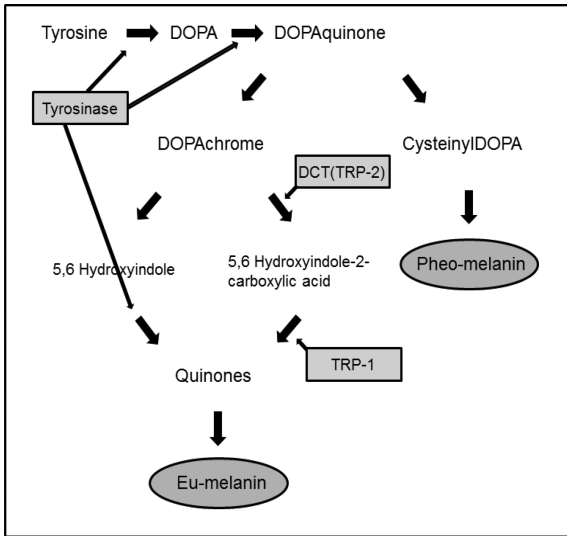


Fig. 1. Melanin synthesis pathway. Melanin synthesis is regulated by tyrosinase, tyrosinase related protein-1 (TRP-1), tyrosinase related protein-2 (TRP-2, DCT).

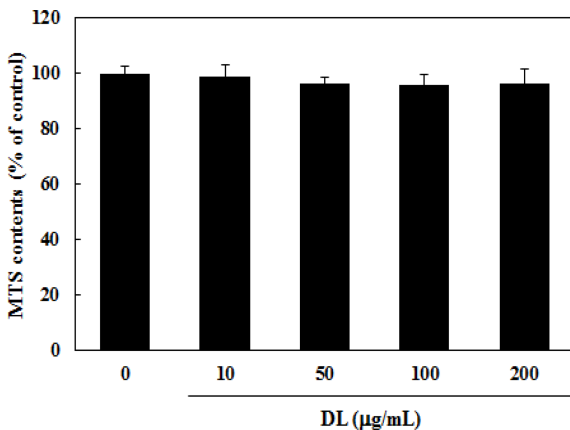


Fig. 2. Effect of DL on cell viability in melanoma (B16F10) cells. Cell viability was evaluated with the MTS assay. Data represent the means \pm SD of triplicate determinations from three separate experiments.

B16F10 세포주에서 세포독성에 미치는 농도를 조사하기 위해 MTS 실험을 수행하였다. 각각 B16F10 세포에 농도별 (10, 50, 100, 200 µg/ml)로 환초석곡 추출물을 처리하고 24시간 후에 MTS를 처리한 결과, 10, 50, 100, 200 µg/ml 처리한 농도에서는 독성이 없는 것으로 나타났다 (Fig. 2).

2. 환초석곡 메탄올 추출물의 멜라닌 합성 저해효과

환초석곡 추출물이 B16F10 세포주에서 melanin 생합성에 미치는 영향을 확인하기 위해, 환초석곡 추출물 (25, 50, 100,

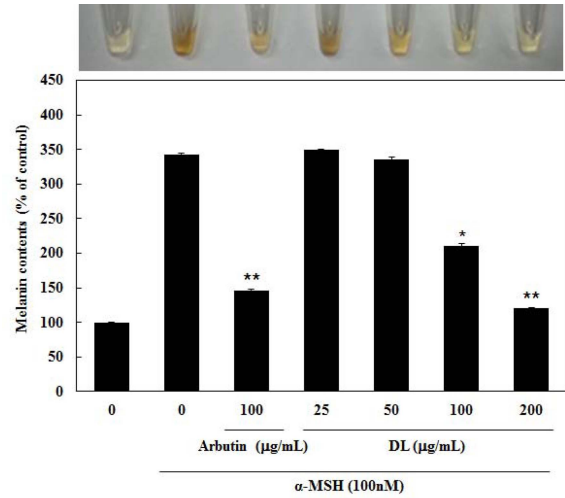


Fig. 3. Effect of DL on melanin contents in melanoma cells. Cells were seeded at 5×10^4 cells/well. After 24 hours, cells were treated with several concentrations of DL, arbutin 100 µg/ml and α -MSH (100 nM) cultured for 72 hours. Melanin contents were measured as described in materials and methods. Data are means \pm SD of three experiments performed in triplicate (* $p < 0.05$ versus α -MSH treatment alone, ** $p < 0.01$ versus α -MSH treatment alone).

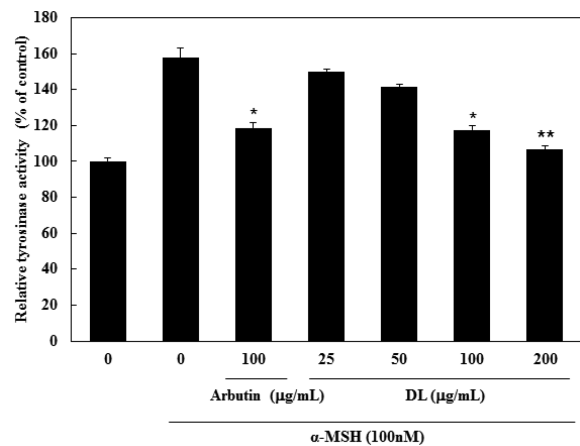


Fig. 4. Effect of DL and α -MSH on tyrosinase activity in melanoma cells. Cells were seeded at 5×10^4 cells/well. After 24 hours, cells were treated with several concentrations of DL, arbutin 100 µg/ml and α -MSH (100 nM) cultured for 72 hours. Tyrosinase activity were measured as described in materials and methods. Data are means \pm SD of three experiments performed in triplicate (* $p < 0.05$ versus α -MSH treatment alone, ** $p < 0.01$ versus α -MSH treatment alone).

200 µg/ml)과 대조군인 arbutin 100 µg/ml 을 처리한 후 1시간 뒤에 α -MSH를 처리하여 melanin 생성을 유도한 후 72시간 배양하여 전체 melanin 함량을 비교하였다. 그 결과, α -MSH

를 단독으로 처리한 세포군에 비해 환초석곡 추출물시료를 처리한 군에서 농도 의존적으로 melanin 함량이 감소되는 것을 알 수 있었다 (Fig. 3). 또한 환초석곡 추출물 시료 100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리한 그룹에서는 유의성 있게 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 환초석곡 메탄올 추출물이 미백 효과가 있음을 알 수 있다.

3. B16F10 세포내 tyrosinase 활성도 저해

환초석곡 추출물이 α -MSH에 의해 증가된 tyrosinase 활성에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위해 세포내 tyrosinase 활성도를 확인하여 보았다. 그 결과, α -MSH에 의해 tyrosinase 활성도가 증가한 것을 확인할 수 있었고 이를 환초석곡 추출물에 의해 α -MSH에 의해 증가된 tyrosinase 활성을 낮출 수 있는 것을 확인하였다 (Fig. 4). 이는 환초석곡추출물 시료가 tyrosinase 활성을 낮춤으로써 미백기능을 할 수 있음을 시사한다.

4. B16F10 세포주에서 tyrosinase 단백질의 발현 감소효과

Tyrosinase는 melanin 생합성에 결정적인 효소로 알려져 있다. 환초석곡추출물에 의해 tyrosinase 단백질 발현에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위해, B16F10 세포주에 농도별 (25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 처리를 한 후 72시간 배양을 하였다. 그 결과 tyrosinase 단백질의 양이 두드러지게 환초석곡 추출물시료를 처리하였을 때 농도 의존적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 5).

5. B16F10 세포주에서 멜라닌 합성 관련 유전자 발현 저해

환초석곡 메탄올추출물이 멜라닌 합성 관련 유전자의 발현에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위해 B16F10 세포주에 α -MSH와 환초석곡 시료를 처리하여 24시간 후에 real-time PCR로 유전자발현을 확인하였다. 그 결과 환초석곡 메탄올 추

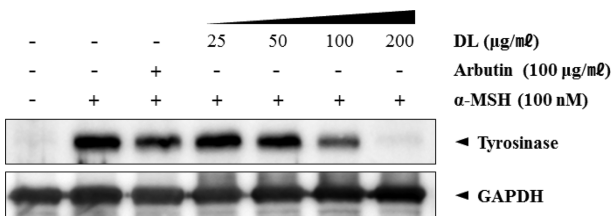


Fig. 5. Effect of the methanol extracts of DL on α -MSH induced tyrosinase protein expression in B16F10 cells. B16F10 cells were seeded at 1×10^5 cells/dish. After 24 hours, cells were treated with several concentrations of the methanol extracts of DL, arbutin 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and α -MSH (100 nM) cultured for 72 hours. Expression of tyrosinase protein were measured as described in materials and methods. Data are means \pm SD of three experiments performed in triplicate.

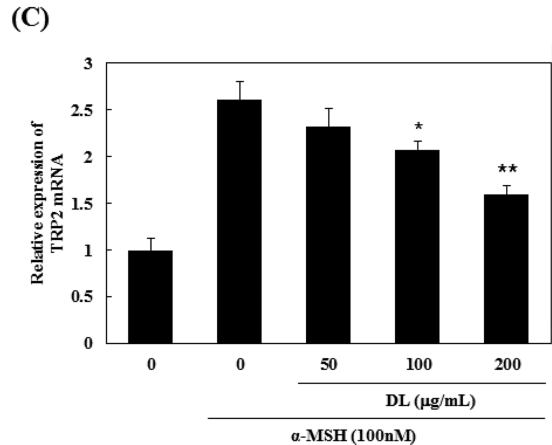
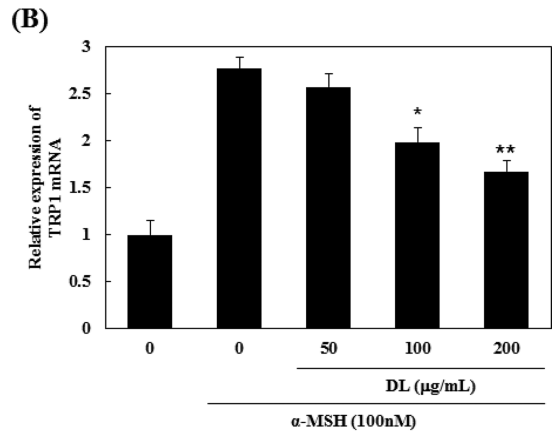
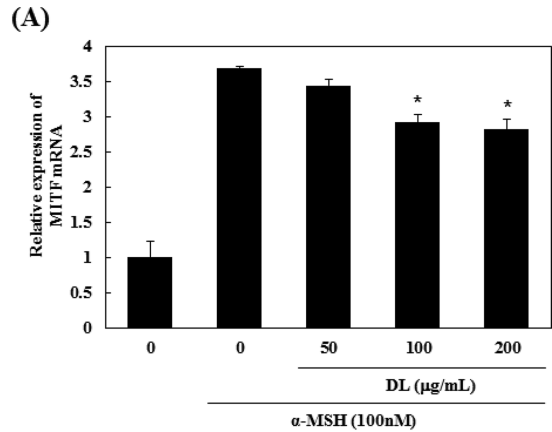


Fig. 6. Effect of DL on expression of MITF(A), TRP-1(B) and TRP-2(C) mRNA in melanoma cells. Cells were seeded at 1×10^5 cells/well. After 24 hours, cells were treated with several concentrations of DL and α -MSH (100 nM) cultured for 24 hours. Expression of MITF, TRP-1 and TRP-2 mRNA were measured as described in materials and methods. Data are means \pm SD of three experiments performed in triplicate (* $p < 0.05$ versus α -MSH treatment alone, ** $p < 0.01$ versus α -MSH treatment alone).

출물은 α -MSH에 의해 증가된 MITF, TRP1, TRP2의 mRNA level을 농도 의존적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 6).

본 실험에서는 중국에서 약용석곡으로 사용되고 있는 환초석곡 메탄올 추출물의 melanin 생성 억제효능 및 tyrosinase activity 측정하고 미백관련 유전자 발현확인과 western blot을 이용하여 tyrosinase 단백질의 발현 정도를 분석하였다. 환초석곡 메탄올 추출물이 B16F10 세포주에 독성이 없는 농도에서 처리한 결과 멜라닌 합성이 100, 200 μ g/ml 농도에서 유의성 있게 감소되는 것을 양성대조군인 arbutin과 비교하여 확인할 수 있었다. 이에 따라 환초석곡 추출물이 멜라닌 합성을 저해하는 것을 확인하였고, 멜라닌 합성에 가장 중요한 단백질인 tyrosinase의 활성도 및 단백질 발현량이 환초석곡 추출물을 처리함에 따라 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, melanin 합성과 관련된 key효소들의 유전자발현을 억제하는 것을 확인할 수 있었고, 환초석곡 메탄올 추출물이 MITF와 관련된 신호전달을 억제하여 멜라닌 합성 관련물질들인 tyrosinase, TRP1, TRP2를 저해하여 최종적으로 멜라닌 생합성을 억제하는 것을 확인할 수 있었다.

위 연구결과들을 토대로 환초석곡 메탄올추출물은 효과적인 미백 기능성 화장품 소재로 사용가능할 것으로 보이며, 이를 위해서는 효율적인 추출법, 전임상 동물실험 그리고 유효성분의 개발과정이 수반되어야 한다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ009470)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ando H, Niki Y, Ito M, Akiyama K, Matsui MS, Yarosh DB and Ichihashi M. (2012). Melanosomes are transferred from melanocytes to keratinocytes through the processes of packaging, release, uptake, and dispersion. *Journal of Investigative Dermatology*. 132:1222-1229.
- Bentley NJ, Eisen T and Goding CR. (1994). Melanocyte-specific expression of the human tyrosinase promoter: Activation by the microphthalmia gene product and role of the initiator. *Molecular and Cellular Biology*. 14:7996-8006.
- Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72:248-254.
- Choi GP, Chung BH, Lee DI, Lee HY, Lee JH and Kim JD. (2002). Screening of inhibitory activities on angiotensin converting enzyme from medicinal plants. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 10:399-402.
- Chun HJ, Choi WH, Baek SH and Woo WH. (2002). Effect of quercetin on melanogenesis in melan-a melanocyte cells. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 33:245-251.
- Hemesath TJ, Price ER, Takemoto C, Badalian T and Fisher DE. (1998). MAP kinase links the transcription factor microphthalmia to c-Kit signalling in melanocytes. *Nature*. 391:298-301.
- Ito M, Matsuzaki K, Wang J, Daikonya A, Wang NL, Yao XS and Kitanaka S. (2010). New phenanthrenes and stilbenes from *Dendrobium loddigesii*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 58:628-633.
- Jeon YS, Jung YJ, Youm JK, Kim YK and Kim SN. (2013). Inhibitory effect of *Endarachne binghamiae* extract on melanin synthesis. *Korean Journal of Plant Resources*. 26:526-532.
- Kim NY and Lee HY. (2015). Effect of antioxidant and skin whitening of ethanol extracts from ultrasonic pretreated *Abeliophyllum distichum* Nakai. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 23:155-160.
- Kim TH, Kim JM, Baek JM, Kim TW, Kim DJ, Park JH and Choe M. (2011). Antioxidant and whitening effects of *Agrimonia pilosa* Ledeb water extract. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 19:177-184.
- Kim YG, Yang GH and Cho SI. (2005). Anti-oxidant effects of *Dendrobium* herba on toxic agent induced kidney cell injury. *Korean Journal of Herbology*. 20:53-60.
- Li MF, Hirata Y, Xu GJ, Niwa M and Wu HM. (1991). Studies on the chemical constituents of *Dendrobium loddigesii* Rolfe. *Acta Pharmaceutica Sinica*. 26:307-310.
- Lu Y, Kuang M, Hu GP, Wu RB, Wang J, Liu L and Lin YC. (2014). Loddigesinols G-J: α -glucosidase inhibitors from *Dendrobium loddigesii*. *Molecules*. 19:8544-8555.
- Ng TB, Liu J, Wong JH, Ye X, Wing-Sze SC, Tong Y and Zhang KY. (2012). Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 93:1795-1803.
- Olivares C and Solano F. (2009). New insights into the active site structure and catalytic mechanism of tyrosinase and its related proteins. *Pigment Cell and Melanoma Research*. 22:750-760.
- Park EY, Lee SH and Kim YC. (2013a). Whitening efficacy of water-soluble extracts from *Prunophora salicina*'s(Daesokjosaeng, Purplekin, Formosa) peel. *Journal of Investigative Cosmetology*. 9:27-32.
- Park SA, Park J, Park CI, Jie YJ, Hwang YC, Kim YH, Jeon SH, Lee HM, Ha JH, Kim KJ and Park SN. (2013b). Cellular antioxidant activity and whitening effects of *Dendropanax morbifera* leaf extracts. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*. 41:407-415.
- Seiberg M. (2001). Keratinocyte-melanocyte interactions during melanosome transfer. *Pigment Cell and Melanoma Research*. 14:236-242.
- Seo SY. (2001). Screening of tyrosinase inhibitors from oriental herbs. *Korean Journal of Plant Resources*. 14:32-37.
- Seo SY, Sharma VK and Sharma N. (2003). Mushroom tyrosinase: Recent prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:2837-2853.
- Tsai AC, Pan SL, Liao CH, Guh JH, Wang SW, Sun HL, Liu YN, Chen CC, Shen CC, Chang YL and Teng CM. (2010).

Moscatilin, a bibenzyl derivative from the India orchid *Dendrobium loddigesii*, suppresses tumor angiogenesis and growth *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Letters*. 292:163-170.

Wu M, Hemesath TJ, Takemoto CM, Horstmann MA, Wells AG, Price ER, Fisher DZ and Fisher DE. (2000). C-Kit triggers dual phosphorylations, which couple activation and degradation of the essential melanocyte factor Mi. *Genes and Development*. 14:301-312.

Yang SY and Boo HO. (2013). Phenolic compounds, antimicrobial effects and tyrosinase inhibition activities of cucumber grown greenhouse according to cultivars and growth stages. *Korean Journal of Plant Resources*. 26:645-651.

Ye QH, Qin GW and Zhao WM (2002). Immunomodulatory sesquiterpene glycosides from *Dendrobium nobile*. *Phytochemistry*. 61:885-890.