생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
42(4) : 323 ~ 328 (2011)

작약 메탄올 추출물 및 분획물의 Tyrosinase 저해 및 Melanin 생성 억제활성

임도연[1] · 이경인[2,3]*
[1]광주여자대학교 미용과학과, [2]동신대학교 생물자원산업화지원센터,
[3]조선대학교 바이오신약개발학과

Tyrosinase Inhibitory Activity and Melanin Production Inhibitory Activity of the Extract and Fractions from Paeoniae Radix

Do youn Im[1] and Kyoung in Lee[2,3]*
[1]Dept. of Beauty Science, Kwangju Women's University, Gwangju 506-713, Korea
[2]Biotechnology Industrialization Center, Dongshin University, Naju, Jeonnam, 520-811, Korea
[3]Dept. of Bio New Drug Development, Chosun University, Gwangju, 501-759, Korea

Abstract – We investigated antioxidative activity, tyrosinase inhibitory activity, and melanin production inhibitory activity of the methanol extract of Paeoniae Radix and its fractions. The total polyphenol content of the extract was 73.45 mg/g, and content of the ethyl acetate fraction was 514.50 mg/g as the highest content of fractions. In DPPH radical scavenging ability, SC_{50} values of the ethyl acetate was 3.86 μg/ml as a result of greater activity in the positive control (ascorbic acid). Moreover, tyrosinase inhibitory activity of the ethyl acetate fraction showed higher activity than arbutin used as a positive control. In the cytotoxicity measurement by MTT assay, the extract and fractions were exhibited cell viabilities of 76.96~157.26% against Raw 264.7 and B16F10 cell in concentration of 10~100 μg/ml. In nontoxic concentration range, the ethyl acetate fraction showed strong melanin production inhibitory effect in α-melanocyte stimulating hormone (α-MSH)-stimulated B16F10 cell. As a result, the ethyl acetate fraction of the methanol extract from Paeoniae Radix could be applicable to functional materials for skin-whitening agents.

Key words – Paeoniae Radix, tyrosinase, melanin, skin-whitening, cytotoxicity

인간의 피부색은 다양한 인자에 의해서 달라지게 되지만 melanin이라는 피부색소의 영향이 가장 크다고 알려져 있다. Melanin은 표피 기저층에 존재하는 melanocyte 내의 melanosome에서 생합성된 후 표피의 각질세포로 이동하여 피부색을 나타내게 된다. 이러한 melanin은 적당량 존재함으로써 자외선과 같은 자극으로부터 피부를 보호해주는 기능을 나타내지만 과도한 색소 침착은 오히려 피부노화 증상을 가져오는 요인으로 작용하게 된다. Melanin 중에서도 피부 색소인 eumelanin의 생합성 과정에 핵심적인 역할을 하는 tyrosinase는 아미노산의 일종인 tyrosine으로부터 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA)를 거쳐 DOPA quinone으로 변환하는 melanin 생성의 필수적인 과정과 5,6-dihydroxyindole (DHI)이 indole-5,6-quinone으로 변환되는 과정에 관여하는 것으로 알려져 있다.[1)] 따라서 피부 미백과 관련하여 tyrosinase를 저해하는 활성이 중요하게 다뤄지고 있으며, 약용식물 등 천연물에서 이와 관련된 활성을 가진 소재를 찾으려는 연구가 진행되고 있다.[2-8)]

약재로 사용되는 작약(Paeoniae Radix)은 약용 식물인 작약(*Paeonia lactiflora* Pall.)의 뿌리 부위로 주로 염증, 진통 및 진경 등의 목적으로 오랫동안 생약재로 사용되어 왔다. 작약에 대한 생리활성 연구는 항염증, 항알러지, 진통 작용, 항균 활성 등에 대해서 이루어졌으며, 주요 성분으로 알려진 paeoniflorin은 면역 관련활성, 항염증 및 항알러지 활성 등 다양한 활성을 가진 것으로 보고되고 있다.[9-12)] 그러나 피부 미백과 관련되어 작약의 활성을 보고한 것은 다양한

*교신저자(E-mail) : kilee@bic.re.kr
(Tel) : +82-61-336-3104

식물체를 대상으로 하여 단일농도에서 tyrosinase 저해활성을 측정한 연구와 다양한 약용식물에 대한 것 등 추출물 수준에서 실시한 연구 외에는 전무한 실정이다.[2,13] 한편, 일반적으로 피부 미백 효과와 항산화 활성은 연관성이 높은 것으로 알려져 있는데, 작약에 대한 항산화 활성이 일부 연구에서 보고되고 있어 피부 미백 활성에 대한 가능성이 높을 것으로 판단된다[14-16]. 따라서 본 연구에서는 작약 메탄올 추출물과 그 용매별 분획물의 항산화 활성을 비롯한 tyrosinase 저해 및 melanin 생성 억제 활성 등을 조사하여 피부 미백 관련 기능성 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료 – 본 실험에 사용한 작약은 2011년 6월 전라남도 화순의 생약농업협동조합에서 구입한 것으로 4°C 이하로 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

추출 및 분획 – 작약 시료 500 g을 blender를 사용하여 마쇄한 후 메탄올 10 l를 추출 용매로 하여 상온에서 48시간씩 3회 반복하여 추출을 실시하였다. 추출액은 여과와 농축 및 동결건조를 실시하여 추출물 106 g (수율 21.20%)을 얻었으며, 이 중 60 g을 증류수 1 l에 분산시킨 후 동량의 chloroform, ethylacetate, butanol을 사용하여 순차적으로 3회 반복하여 용매분획을 실시하였다. 분획된 시료는 여과와 농축 및 동결건조 후 추출물과 함께 4°C 이하로 냉장보관하면서 실험에 사용하였는데, chloroform, ethylacetate, butanol 및 aqueous 분획의 수율은 각각 5.68%, 8.08%, 18.23% 및 68.01%이었다.

세포주 배양 – 세포독성 실험에 사용된 Raw 264.7 세포는 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin을 혼합한 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)배지를 사용하여 37°C, 5% CO_2 조건에서 배양하였다. B16F10 세포는 동일한 조건에서 phenol-red가 포함되지 않은 DMEM 배지를 사용하여 배양하였다.

총 polyphenol 함량 측정 – Folin-Denis법을 이용하여 열수 추출물 및 분획물의 페놀성 화합물 함량을 측정하였다.[17] Methanol에 1 mg/ml농도로 용해시킨 시료액 80 μl와 Folin-Denis reagent 80 μl를 혼합하여 3분간 반응시킨 뒤 10% Na_2CO_3 80 μl를 혼합하여 1시간동안 암실에서 반응시킨 후, 상등액 120 μl를 취하여 96well plate에 옮겨 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 tannic acid를 0~500 μg/ml의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 표준 검량선을 작성하고 페놀성 화합물의 함량을 mg/g tannic acid로 나타내었다.

DPPH radical 소거능 측정 – 작약 추출물과 분획물의 항산화활성을 비교하기 위해 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 사용하여 radical 소거능을 측정하였다.[18] Methanol에 농도별로 용해시킨 각 시료액 20 μl와 200 μM DPPH 용액 180 μl를 혼합하여 15분간 암실에서 반응시킨 후 microplate reader를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료액 대신 methanol을 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 소거능을 산출하였으며, 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 농도 (SC_{50})를 추가적으로 계산하였다. Positive control로 ascorbic acid (vitamin C)를 사용하였다.

Tyrosinase 저해 활성 측정 – Tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 방법을 변형하여 측정하였다.[2] 0.1M phosphate buffer 100 μl와 농도별 시료 액 20 μl를 혼합하여 5분간 실온에서 반응시켰다. 반응 액에 0.1M phosphate buffer에 용해시킨 tyrosinase (1K unit/ml) 30 μl와 1.5 mM tyrosine 30 μl를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 완료되면 490nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 buffer 용액을 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 저해 활성을 산출하였고, positive control로 arbutin을 사용하였다.

MTT assay에 의한 세포독성 측정 – 작약 추출물 및 분획물의 세포에 대한 독성은 MTT assay 방법에 의해 측정하였다.[19] 배양된 Raw 264.7 세포와 B16F10 세포를 96well plate에 1×10^4 cells/well의 농도로 분주하여 24시간 배양하여 부착 및 안정화 시킨 후, 농도별로 희석한 시료를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. PBS에 5 mg/ml의 농도로 용해시켜 제조한 MTT용액을 각 well에 10 μl씩 가하고, 37°C, 5% CO_2 조건에서 4시간 동안 반응시켜 MTT가 환원되도록 하였다. 배지를 제거한 후, 각 well에 100 μl의 DMSO를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 용해시켜 540nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 PBS를 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 세포 생존율 산출하였다.

Melanin 생성 억제 활성 측정 – B16F10 세포를 48-well plate에 1×10^4 cells/well의 농도로 분주하여 24시간 배양하여 부착 및 안정화시킨 후, 농도별로 희석한 시료와 α-melanocyte stimulating hormone (a-MSH)를 처리하여 72시간 동안 배양한 후 생성된 melanin양을 405 nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였다.[20] 시료액 대신 PBS를 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 melanin 생성 억제율을 산출하였고, positive control로 arbutin을 사용하였다.

통계분석 – 모든 측정값은 3회 이상 반복 실험한 결과의 평균값과 표준편차 (mean±SD)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 windows용 SPSS 12.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 각 군 간의 측정치 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA)를 시행하였으며, 유의성은 신뢰구간 $p<0.05$에서 의미를 부여하였다.

결과 및 고찰

총 polyphenol 함량 – Polyphenol은 식물의 대표적인 2차 대사산물로 hydroxyl기를 가지는 방향족 화합물로서 항산화 활성 등 다양한 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 페놀성 화합물의 종류나 함량이 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.[21,22] 작약 methanol 추출물과 분획물의 총 polyphenol 함량 측정 결과를 Table I에 나타내었다. 추출물의 polyphenol 함량이 73.45 mg/g으로 측정되었으며, 분획물 중에서는 ethyl acetate 분획의 polyphenol 함량이 514.50 mg/g으로 나타나 가장 높은 함량을 보였다. 다음으로는 butanol 분획에서 116.08 mg/g로 나타나 ethyl acetate 분획과 butanol 분획이 추출물보다 polyphenol 함량이 높게 나타난 것을 확인할 수 있었다. 특히, ethyl acetate 분획의 polyphenol 함량은 산벚나무 등 기존 연구에서 polyphenol 함량이 높다고 알려진 식물 추출물 분획의 함량보다도 높게 나타나 관련된 활성을 기대할 수 있을 것으로 판단되었다.[5,6]

DPPH radical 소거능 – 작약 methanol 추출물과 분획물의 항산화활성을 비교하기 위해 실시한 DPPH radical 소거능 측정 결과를 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 시료농도를 나타내는 SC_{50}으로 Table II에 나타내었다. 가장 소거능이 높게 나타난 시료는 ethyl acetate 분획으로 3.86 μg/ml의 SC_{50}으로 positive control로 사용된 ascorbic acid의 활성보다도 높게 나타났다. 다음으로는 butanol 분획이 51.51 μg/ml로 나타났으나 ethyl acetate 분획과 현저한 차이를 가지는 결과였다. 이와 같은 DPPH radical 소거능은 positive control로 사용된 ascorbic acid의 SC_{50}인 6.15 μg/ml를 100.00%로 하여 환산한 relative activity에서 ethyl acetate와 butanol 분획이 각각 159.33%와 11.94%에 해당하는 항산화 활성을 보이는 것으로 평가할 수 있었다. Table I의 polyphenol 함량과 비교하면 DPPH radical 소거능과 같은 항산화 관련 활성이 polyphenol 함량과 밀접한 관계성이 있음을 알 수 있었으며, 이는 기존의 연구들에서 밝히고 있는 결과와 유사한 것으로 판단되었다.[23-25]

Tyrosinase 저해 활성 – Tyrosinase는 tyrosine을 산화시켜 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) 및 DOPA quinone을 만드는 DOPA oxidase로서 작용함과 동시에 DOPA chrome에서 유도된 5,6-dihydroxyindole (DHI)이 indole-5,6-quinone으로 변환되는 과정에 관여하여 melanin 중합체를 합성하는데 중요한 효소로 작용한다.[1] 물론 tyrosinase-related protein-1 (TRP-1)과 tyrosinase-related protein-2 (TRP-2) 등도 melanin 생합성 경로에 일부 관여하는 것으로 알려져 있으나 tyrosinase가 필수적이면서도 다양한 과정에 작용한다는 점에서 피부 미백활성을 측정하는데 효과적인 것으로 알려져 있다.[2] Fig. 1에 나타낸 바와 같이 실험이 실시된 농도에서 ethyl acetate 분획의 tyrosinase 저해 활성이 높은 수준임이 확인되었다. 특히, positive control로 사용된 arbutin의 활성과 비교해서 100 μg/ml에서는 각각 22.49%와 24.61%로 동일한 수준이었으며, 500 μg/ml에서는 arbutin의 저해율인 64.57% 보다도 높은 85.49%의 저해율을 나타냄으로써 tyrosinase 저해제로서 가능성이 높음을 알 수 있었다. 반면 다른 분획들은 arbutin 뿐만이 아니라 추출물의 저해 활성에 비해서도 낮은 활성을 가지는 것으로 나타났다. 한편, 작약 methanol 추출물의 tyrosinase 저해활성은 산작약(*Paeonia obovata*) 추출물에서 다른 약용식물에 비해 비

Table I. Total polyphenol content in the extract and fractions from Paeoniae Radix

	EX	CF	EF	BF	AF
Polyphenol (mg/g TAE[1)])	73.45±1.70[2)B]	54.83±2.56[C]	514.50±9.58[A]	116.08±1.85[B]	34.52±3.18[D]

[1)]TAE : tannic acid equivalent. [2)]Values are mean±SD (n=6). EX: methanol extract, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: butanol fraction, AF: aqueous fraction. Different superscript letters in the same line show significant differences at $p<0.05$ by one-way ANOVA.

Table II. DPPH radical scavenging ability of the extract and fractions from Paeoniae Radix

	EX	CF	EF	BF	AF	AA
SC_{50}[1)] (μg/ml)	66.01±5.05[3)C]	93.79±5.68[D]	3.86±0.28[A]	51.51±6.19[B]	357.22±7.47[E]	6.15±0.37[A]
Relative[2)] activity(%)	9.32	6.56	159.33	11.94	1.72	100.00

[1)]SC_{50}: concentration of each samples for scavenging 50% of DPPH radical. [2)]Relative activity: ratio of SC_{50} value compared to positive control (ascorbic acid). [3)]Values are mean±SD (n=6). EX: methanol extract, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: butanol fraction, AF: aqueous fraction, AA: ascorbic acid. Ascorbic acid was used as a positive control. Different superscript letters in the same line show significant differences at $p<0.05$ by one-way ANOVA.

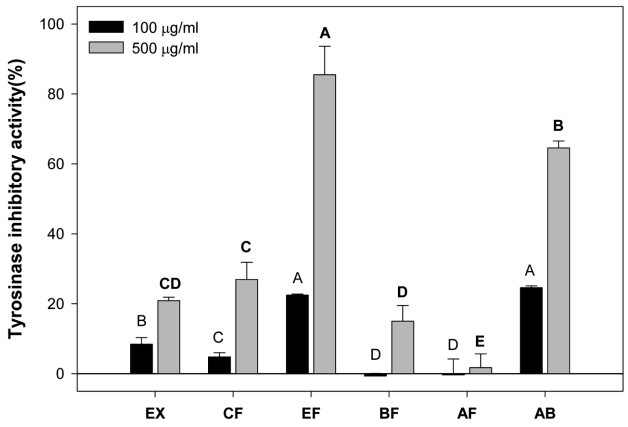

Fig. 1. Tyrosinase inhibitory activity of the extract and fractions from Paeoniae Radix. Values are mean±SD (n=3). EX: methanol extract, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: butanol fraction, AF: aqueous fraction, AB: arbutin. Arbutin was used as a positive control. Different superscript letters in the same concentration without gentamycin show significant differences at $p<0.05$ by one-way ANOVA.

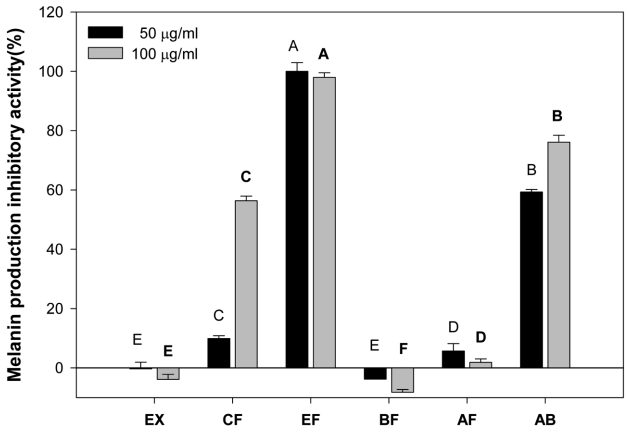

Fig. 2. Melanin production inhibitory activity of the extract and fractions from Paeoniae Radix. Values are mean±SD (n=3). EX: methanol extract, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: butanol fraction, AF: aqueous fraction, AB: arbutin. Arbutin was used as a positive control. Different superscript letters in the same concentration without gentamycin show significant differences at $p<0.05$ by one-way ANOVA.

교적 양호한 저해활성을 가졌다는 선행 연구 보고와 작약의 물 추출물의 tyrosinase 저해활성을 보고한 결과보다는 낮은 수준이었다.[2,13)]

MTT assay에 의한 세포독성 – 작약 methanol 추출물과 분획물의 Raw 264.7 세포와 melanoma 세포인 B16F10 세포에 대한 세포독성을 측정한 결과 Table III와 같은 세포생존율을 나타내었다. Raw 264.7 세포에 대한 세포생존율에서 chloroform 분획의 500 μg/ml 농도에서 나타난 15.79%의 세포생존율을 제외하면 전반적으로 양호한 생존율을 보였다. B16F10 세포에 대한 세포생존율에서는 정상세포인 Raw 264.7 세포에서는 비교적 양호한 세포생존율을 보였던 ethyl acetate 분획의 500 μg/ml 농도에서 28.73%의 세포생존율을 보여 암세포주인 B16F10에 대한 세포독성을 나타내었다. 한편, B16F10 세포의 생존율은 melanin 생성 억제 활성의 결과와 관련하여 추출물이나 분획물이 melanin 생합성을 억제시켜 생성량을 감소시키는 것인지, 세포독성에 의해 세포의 증식 자체를 억제시켜 감소시키는 것인지를 판단하는 중요한 근거가 된다. 따라서 본 연구에서는 Raw 264.7 세포와 B16F10 세포에 대한 chloroform과 ethyl acetate 분획의 세포독성을 감안하여 100 μg/ml 이하의 농도에서 melanin 생성 억제 활성 실험을 진행하였다.

Melanin 생성 억제 활성 – 작약 methanol 추출물과 분획물의 melanin 생성 억제 활성을 측정한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 50 μg/ml 농도에서 ethyl acetate 분획의 melanin 생성 억제율은 99.99%로서 positive control로 사용된 arbutin의 동일한 농도에서의 생성 억제율인 59.32% 뿐만 아니라 100 μg/ml 농도에서의 생성 억제율인 76.11% 보

Table III. Raw 264.7 and B16F10 cell viability of extract and fractions from Paeoniae Radix

Cell lines	Sample concentration (μg/ml)	Cell viability (%)				
		EX	CF	EF	BF	AF
Raw 264.7	10	105.52±5.50[1)]	142.70±26.12	103.36±2.64	106.02±8.60	90.95±6.21
	100	90.60±9.65	157.26±27.14	76.96±5.39	119.71±7.44	87.68±4.74
	500	90.96±12.09	15.79±0.48	66.10±13.66	151.07±18.45	101.98±8.87
B16F10	10	95.09±6.72	88.41±3.04	89.14±3.83	91.42±4.45	93.84±3.40
	100	86.54±3.41	99.69±5.36	83.99±4.61	96.39±3.91	94.30±5.04
	500	95.77±1.77	80.54±9.55	28.73±1.84	112.63±3.46	106.92±7.31

[1)]Values are mean±SD (n=3). EX: methanol extract, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: butanol fraction, AF: aqueous fraction.

다도 높은 활성을 나타내었다. 특히 MTT assay에 의한 B16F10 세포 생존율에서 세포독성을 나타내지 않은 농도에서의 melanin 생성 억제율임으로 ethyl acetate 분획물이 melanin 생합성 과정을 억제시켜 생성량을 감소시키는 것으로 판단할 수 있었다. Fig. 1의 tyrosinase 저해활성 결과와 연관시켜 보면 melanin 생합성 과정 중 단순히 tyrosinase만을 저해하는 것이 아니라 TRP-1이나 TRP-2 등 다른 요소에도 작용하는 등 보다 복합적일 것으로 추측되며, 이는 실험이 실시된 농도보다 낮은 조건에서의 활성 등을 포함한 추가적인 연구를 통해 구체적인 규명이 필요할 것으로 판단된다.

결 론

본 연구에서는 피부 미백과 관련된 작약의 활성을 탐색하기 위해 methanol 추출물과 그 용매별 분획물의 항산화 활성, tyrosinase 저해 활성, melanin 생성 억제 활성, 세포독성 등을 조사하였다. 작약 methanol 추출물의 ethyl acetate 분획에서 polyphenol 함량이 514.50 mg/g으로 나타나 가장 높은 함량을 보였으며, DPPH radical 소거능 측정 결과에서도 ethyl acetate 분획의 활성이 positive control로 사용된 ascorbic acid보다도 높은 수준임을 확인할 수 있었다. Tyrosinase 저해 활성에서도 ethyl acetate 분획의 저해 활성이 가장 높은 수준으로 확인되었으며, positive control로 사용된 arbutin에 비해서도 농도에 따라서 동등 이상의 저해 활성을 나타내었다. B16F10 세포를 대상으로 실시한 melanin 생성 억제 활성 측정에서, 세포독성을 나타내지 않는 농도 범위에서 ethyl acetate 분획이 positive control로 사용된 arbutin보다도 높은 생성 억제 활성을 나타내었다. 결과적으로 작약 methanol 추출물의 ethyl acetate 분획이 항산화 및 tyrosinase 저해활성, melanin 생성 억제 활성이 뛰어난 것으로 나타나 피부 미백과 관련된 기능성 소재로서의 가능성을 확인하였다.

인용문헌

1. Marmol, V. del. and Beermann, F. (1996) Tyrosinase and related proteins in mammalian pigmentation. *FEBS Lett*. **381**: 165-168.
2. Jung, S. W., Lee, N. K., Kim, S. J. and Han, D. S. (1995) Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Kor. J. Food Sci. Technol*. **27**: 891-896.
3. Cho, Y. H. (2008) Inhibitory effect of *Enteromorpha linza* on the melanogenesis in B16 melanoma cells. *Kor. J. Pharmacogn*. **39**: 174-178.
4. Lee, J. S., Kim J. A., Cho, S. H., Son, A. R., Jang, T. S., So, M. S., Chung, S. R. and Lee, S. H. (2003) Tyrosinase inhibitors isolated from the root of *Glycyrrhiza glabra* L. *Kor. J. Pharmacogn*. **34**: 33-39.
5. Lee, K. I., Yang, S. A., Pyo, B. S. and Kim, S. M. (2011) Antibacterial activity against pathogens of acne and tyrosinase inhibitory activity of extract and fractions from bark of *Prunus sargentii*. *Kor. J. Pharmacogn*. **42**: 155-160.
6. Im, D. Y. and Lee, K. I. (2011) Antioxidative and antibacterial activity and tyrosinase inhibitory activity of the extract and fractions from *Taraxacum coreanum* Nakai. *Korean J. Medicinal Crop Sci*. **19**: 238-245.
7. Kim, J. S., Seo, Y. C., Choi, W. Y., Kim, H. S., Kim, B. H., Shin, D. H., Yoon, C. S., Lim, H. W., Ahn, J. H. and Lee, H. Y. (2011) Enhancement of antioxidant activities and whitening effect of *Acer mono* Sap through nano encapsulation processes. *Korean J. Medicinal Crop Sci*. **19**: 191-197.
8. Kim, T. H., Kim, J. M., Baek, J. M., Kim, T. W., Kim, D. J., Park, J. H. and Choi, M. (2011) Antioxidant and whitening effects of *Agrimonia pilosa* Ledeb water extract. *Korean J. Medicinal Crop Sci*. **19**: 191-197.
9. Yang, H. O., Ko, W. K., Kim, J. Y. and Ko, H. S. (2004) Paeoniflorin: an antihyperlipidemic agent from *Paeonia lactiflora*. *Fitoterapia* **75**: 45-49.
10. Yamahara, J., Yamada, T., Kimura, H., Sawada, T. and Fujimura, H. (1982) Biological active principles of crude drugs. II. Anti-allergic principles in "Shoseiryu-To" antiinflammatory properties of paeoniflorin and its derivatives. *J. Pharmaco-Dynamics* 5: 921-929.
11. Wei, W.-S., Wang, Y.-Q. and Wang, S.-Y. (1987) Immunoregulatory effects of total glucosides of paeony root in mice. *Chin. Pharmacol. Bull*. 3: 148-152.
12. Park, K. D. and Cho, S. H. (2010) Antimicrobial characteristics of *Paeonia lactiflora* Pall. extract tested against food-putrefactive microorganisms. *Korean J. Food Preserv*. **17**: 706-711.
13. Cha, B. C. (2011) Tyrosinase, hyaluronidase inhibitory effect and antioxidant activity of medicinal plants. *Kor. J. Pharmacogn*. **42**: 89-97.
14. Bang, M. h., Song, J. C., Lee, S. Y., Park, N. K. and Baek, N. I. (1999) Isolation and structure determination of antioxidants from the root of *Paeonia lactiflora*. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol*. **42**: 170-175.
15. Lee, S. C., Kwon, Y. S., Son, K. H., Kim, H. P. and Heo, M. Y. (2005) Antioxidative constituents from *Paeonia lactiflora*. *Arch. Pharm. Res*. **28**: 775-783.
16. Hwang, E. Y., Kim, D. H., Kim, H. J., Hwang, J. Y., Park, T. S., Lee, I. S. and Son, J. H. (2011) Antioxidant activities and nitric oxide production of medicine plants in *Gyeongsangbukdo* (*Carthamus tinctorius* seed, *Cyperus rotundus*, *Schizonepeta tenuifolia*, *Polygonatum odoratum* var. pluriflorum, *Paeonia lactiflora*). *J. Appl. Biol. Chem*. **54**: 171-177.
17. Otto, F. and Denis, W. (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biological Chem-*

istry. **12**: 239-243.
18. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1199-1200.
19. Shin, K. M., Park, Y. M., Kim, I. T., Hong, S. P., Hong, J. P. and Lee, K. T. (2003) *In vitro* antiinflammatory activity of amygdalin in murine macrophage Raw264.7 cells. *Kor. J. Pharmacogn*. **34**: 223-227.
20. Hosoi, J., Abe, E., Suda, T. and Kuroki, T. (1985) Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Res*. **45**: 1474-1478.
21. Liu, R. H. (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention : mechanism of action. *J. Nutr*. 3479S-3485S.
22. Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A. and Remesy, C. (2005) Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *Am. J. Clin. Nutr*. **81**: 230S-242S.
23. Lee, K. I. and Im, D. Y. (2011) Biological activities of the water extract and its fractions from *Taraxacum coreanum* Nakai. *Kor. J. Pharmacogn*. **42**: 195-200.
24. Eom, H. J., Kim, S. M., Pyo, B. S. and Lee, K. I. (2009) Changes of physiological activity by drying temperature in leef of *Eriobotrya japonica*. *Kor. J. Pharmacogn*. **40**: 178-183.
25. Oh, Y. J., Seo, H. R., Choi, T. M. and Jung, D. S. (2010) Evaluation of antioxidant activity of the extracts from the aerial parts of *Cnidium officinale* Makino. *Korean J. Medicinal Crop Sci*. **18**: 373-378.

(2011. 11. 22 접수; 2011. 12. 12 심사; 2011. 12. 15 게재확정)