

철쭉 가지 에탄올 추출물 및 용매별 분획물의 항산화 활성과 Tyrosinase 저해 활성

임도연* · 이경인****†

*광주여자대학교 교양교직과정부, **동신대학교 생물자원산업화지원센터, ***조선대학교 바이오신약개발학과

Antioxidative Activity and Tyrosinase Inhibition Effect of Ethanol Extract and Its Fractions from the Branch of *Rhododendron schlippenbachii*

Do Youn Im* and Kyoung In Lee****†

*Division of Pre-service Teacher Training & General Studies, Kwangju Women's University, Gwangju 506-715, Korea.

**Biotechnology Industrialization Center, Dongshin University, Naju 520-811, Korea.

***Department of Bio New Drug Development, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea.

ABSTRACT : This study was conducted to investigate the antioxidative activity and tyrosinase inhibitory activity of 50% ethanol extract and its fractions from the branch of *Rhododendron schlippenbachii*. In DPPH radical scavenging ability, butanol and ethyl acetate fractions showed 59.98% and 55.17% of relative activity compared with positive control (ascorbic acid), but the 50% ethanol extract showed relatively low activity. In nitric oxide (NO) scavenging ability, the ethyl acetate and butanol fractions showed 141.80% and 131.55% relative activity compared with ascorbic acid as used for positive control. On the other hand, tyrosinase inhibitory activity of the ethyl acetate and butanol fractions showed about twice higher activity than positive control (arbutin). It means that the ethyl acetate and butanol fractions from the extract of *R. schlippenbachii* branch has ability for used as effective radical scavenger and tyrosinase inhibitor.

Key Words : *Rhododendron schlippenbachii*, Antioxidative Activity, Tyrosinase Inhibitory Activity, Nitric Oxide, Cytotoxicity

서 언

생체에서 일어나는 다양한 산화 작용의 결과로 나타날 수 있는 현상에는 노화와 같은 자연스러운 것으로 받아들여지는 것 이외에도 조직이나 세포의 손상으로 인한 질환의 원인이 되기도 한다. 산화적 스트레스 (oxidative stress)의 직접적 원인이 되는 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)은 불안정하고 반응성이 높아 여러 생체물질과 쉽게 반응하고 생체 분자를 공격하게 되는 것으로 보고되고 있다 (Videla and Fernandez, 1988). 이로 인해 돌연변이, 세포독성 같은 증상뿐만 아니라 발암 등을 초래하게 된다. 따라서 활성산소종을 제거하기 위한 항산화 물질을 안전한 천연물에서 찾으려는 시도가 계속되고 있다. 과량이 존재하면 세포손상뿐만 아니라 염증 반응을 비롯한 뇌막염, 알츠하이머병과 파킨슨병 같은 퇴

행성 질환에 중요한 요인으로 작용하는 nitric oxide (NO) 역시 활성질소종 (reactive nitrogen species, RNS)의 한 부류로 ROS와 함께 산화적 스트레스의 원인으로 작용하게 되는데, 특히 생체 내에서 일어나는 매우 복잡한 염증 반응 과정 중에 염증유도 cytokine류와 함께 많은 양이 생성되는 것으로 알려져 있다 (Chung *et al.*, 2001; Byun *et al.*, 2005). 이러한 산화적 스트레스에 쉽게 노출될 수 있는 생체 조직 중 하나가 피부라고 할 수 있다. 인간의 피부는 주변의 환경과 가장 먼저 접하는 부위로 모든 외부적 스트레스의 수용체로서의 역할을 하게 된다. 이로 인해 다양한 변화가 발생하게 되는데, 특히 노화나 피부질환의 유발이 뒤따르게 된다. 최근 들어 기존에 약용자원으로 사용되고 있는 작물과 함께 새로운 가능성을 가지는 소재에 대한 연구가 다양하게 진행되고 있다.

철쭉 (*Rhododendron schlippenbachii*)은 진달래과 (Ericaceae)

†Corresponding author: (Phone) +82-61-336-3104 (E-mail) kilee@bic.re.kr

Received 2013 September 25 / 1st Revised 2013 October 19 / 2nd Revised 2013 October 28 / 3rd Revised October 29 / Accepted 2013 Revised October 29
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.

진달래속 (*Rhododendron*)에 속하는 식물로써 화경에 뚜렷한 검은 점들을 가지고 있으며, 꽃받침에 끈적끈적한 액이 있다. 철쭉의 꽃에는 *grayanotoxin* 등의 독성성분으로 인한 호흡마비 등의 위험성이 알려져 있으나, 철쭉의 잎은 고혈압의 치료 목적이나 당뇨와 관련하여 당대사 억제에 관련된 연구 소재로 사용되어 왔다 (Popescu and Kopp, 2013; Sancheti *et al.*, 2011). 국내에서는 주로 관상용으로 재배되는 특성 상 다양한 생리활성에 대한 연구는 아직까지 미흡한 상태이며, 일부 독성에 대한 증례만 보고되고 있다 (Jeong *et al.*, 2009; Eo and Kwon, 2009). 본 연구에서는 지금까지 연구되지 않았던 철쭉 가지의 생리활성을 탐색하고자 50% ethanol 추출물과 극성별 용매 분획물을 대상으로 항산화활성과 tyrosinase 저해능을 조사하여 기능성 약용작물 소재 개발의 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 추출

실험에 사용된 철쭉 (*Rhododendron schlippenbachii*) 가지는 2012년 5월에 전라남도 나주에서 채취한 것으로 잎을 제거하고 40°C에서 건조한 후 실험에 사용하였다. 본 추출에 앞서 에탄올과 메탄올, 증류수 등으로 추출을 실시하여 비교한 결과 수율 및 활성에서 가장 우수한 것으로 확인된 50% 에탄올을 추출 용매로 결정하였다. 건조된 철쭉 가지 시료 1 kg을 blender를 사용하여 분쇄한 후 50% ethanol 10 l를 추출용매로 하여 80°C에서 2시간씩 3회 반복하여 환류추출을 실시한 후 여과, 감압농축 및 동결건조 과정을 거쳐 56.0 g의 추출물을 최종적으로 확보하였다. 이 중 50 g을 증류수에 분산시켜 chloroform, ethyl acetate, butanol 순으로 분획을 실시하여 각각 8.2%, 14.8%, 35.2%, 41.8%의 수율로 분획물을 얻었으며, 추출물과 함께 4°C 이하로 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 총 Polyphenol 함량 측정

Folin-Denis법을 이용하여 추출물 및 분획물 시료의 polyphenol 함량을 측정하였다 (Otto and Denis, 1912). Methanol에 1 mg/ml 농도로 용해시킨 시료액 80 μ l와 Folin-Denis reagent 80 μ l를 혼합하여 3분간 반응시킨 뒤 10% Na₂CO₃ 80 μ l를 혼합하여 1시간동안 암실에서 반응시킨 후, 상등액 120 μ l를 취하여 96well plate에 옮겨 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 tannic acid를 0~500 μ g/ml의 농도로 제조하여 표준 검량선을 작성하고 총 polyphenol 함량을 mg/g로 나타내었다.

3. Flavonoid 함량 측정

페놀성 화합물 중 특히 여러 가지 기능성을 나타내는 것으

로 알려진 flavonoid 함량을 알아보기 위해 Moreno 등 (2000)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 1 mg/ml 농도로 methanol에 용해시킨 시료액 100 μ l와 10% aluminium nitrate 20 μ l, 1 M potassium acetate 20 μ l, methanol 860 μ l를 차례로 혼합하여 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 rutin 0~500 μ g/ml의 농도로 제조하여 표준 검량선을 작성하고 총 flavonoid 함량을 mg/g으로 나타내었다.

4. DPPH radical 소거능 측정

추출물 및 분획물 시료의 항산화활성을 비교하기 위해 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 사용하여 radical 소거능을 측정하였다 (Blois, 1958). 각 시료를 methanol에 0.1~5.0 mg/ml의 다양한 농도로 용해시킨 시료액 20 μ l와 200 μ M로 용해시킨 DPPH 용액 180 μ l를 혼합하여 15분간 암실에서 반응시킨 후 microplate reader (BIO-TEK, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 바탕으로 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 농도 (concentration of sample for scavenging 50% of radical, SC₅₀)를 계산하였다. Positive control로 ascorbic acid를 사용하였다.

5. Nitric oxide 소거능 측정

Nitric oxide (NO) 소거능은 Marcocci 등 (1994)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 10 mM sodium nitroferricyanide (III) dihydrate 50 μ l와 증류수에 일정농도로 용해시킨 시료액 30 μ l를 혼합한 후 25°C에서 150분 동안 반응시켰다. 1% sulfanilamide (in 30% acetic acid) 60 μ l를 혼합하고 5분후 다시 0.1% N-(naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (in 60% acetic acid) 60 μ l를 혼합하여 30분간 실온에서 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 ascorbic acid를 사용하였으며, 시료액 대신 증류수를 사용한 대조군의 결과를 기준으로 소거능을 계산하였다.

6. Tyrosinase 저해 활성 측정

Tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 방법으로 tyrosinase 저해 활성을 측정하였다 (Jung *et al.*, 1995). 0.1 M phosphate buffer 100 μ l와 농도별 시료 액 20 μ l를 혼합하여 5분간 실온에서 반응시켰다. 반응 액에 0.1 M phosphate buffer에 용해시킨 tyrosinase (1 K unit/ml) 30 μ l와 1.5 mM tyrosine 30 μ l를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 완료되면 490 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 buffer 용액을 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 저해 활성을 산출하였고, positive control로 arbutin을 사용하였다.

7. MTT assay에 의한 세포독성 측정

추출물 및 분획물 시료의 세포독성은 MTT assay 방법에 의해 측정하였다 (Shin *et al.*, 2003). 세포독성 시험에 사용된 동물세포주인 Raw 264.7은 한국생명공학연구원 생물자원센터 (BRC)에서 분양 받은 것을 사용하였으며, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, WelGENE, Korea)배지에 10% FBS 와 1% penicillin-streptomycin을 혼합한 배지를 사용하였다. 배양된 Raw 264.7 세포를 96well plate에 1×10^4 cells/well 의 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 μ l 씩 가하고, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 4시간 동안 반응시켜 MTT가 환원되도록 하였다. 배지를 제거한 후, 각 well에 100 μ l의 DMSO를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 용해시켜 540 nm 에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 PBS를 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 세포 생존율 산출하였다.

9. 통계분석

모든 측정값은 3회 이상 반복 실험한 결과의 평균값과 표준 편차 (mean \pm SD)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 windows용 SPSS 12.0 (SPSS Inc, Chicago, USA)을 이용하였다. 각 군 간의 측정치 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA)를 시행한 후 사후분석으로 Duncan's multiple range test를 실시하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결과 및 고찰

1. 총 Polyphenol 및 Flavonoid 함량

철쭉 가지 추출물 및 분획물의 polyphenol과 flavonoid 함량을 측정한 결과를 Table 1에 제시하였다. 추출물에서 256.73 mg/g으로 존재하였던 polyphenol 함량은 분획과정을 거친 후 ethyl acetate 분획에서 470.62 mg/g으로 가장 높은 함량을 보여주었으며, butanol 분획에서도 428.49 mg/g의 높은 함량을 나타냈다. 반면 chloroform 분획과 aqueous 분획은 각각 60.36 mg/g과 4.70 mg/g으로 현저히 낮은 함량을 가지는 것으로 나타났다. Flavonoid 함량의 경우도 ethyl acetate 분획에서 117.85 mg/g으로 가장 높게 나타났으며, polyphenol 함량에서 ethyl acetate 분획과 유사한 수준으로 높은 함량을 보였던 butanol 분획은 flavonoid 함량에서는 현저히 낮은 함량을 보임으로써 두 분획간의 성분 조성에 큰 차이가 있음을 알 수 있었다. 식물 중에 존재하는 polyphenol 화합물은 hydroxyl기를 가지는 방향족 화합물로서 항산화 활성이나 항암 활성 등 다양한 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있으며 (Liu,

Table 1. Total polyphenol and flavonoid contents of the extract and fractions from the branch of *Rhododendron schlippenbachii*.

Solvent Extracts	Polyphenol (mg/g TAE [†])	Flavonoid (mg/g RE [‡])
EX	256.73 \pm 2.11 ^c	36.61 \pm 5.34 ^{*c**}
CF	60.36 \pm 0.31 ^d	17.83 \pm 3.79 ^d
EF	470.65 \pm 6.16 ^a	117.85 \pm 10.02 ^a
BF	428.49 \pm 3.21 ^b	40.58 \pm 1.43 ^b
AF	4.70 \pm 0.12 ^e	15.85 \pm 2.78 ^d

[†]TAE; Tannic Acid Equivalent.

[‡]RE; Rutin Equivalent.

*Values are mean \pm SD (n = 3). EX; 50% Ethanol Extract, CF; Chloroform Fraction, EF; Ethylacetate Fraction, BF; Butanol Fraction, AF; Aqueous Fraction.

**Different superscript letters in the same column show significant differences at $p < 0.05$ by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

Table 2. DPPH radical scavenging ability of the extract and fractions from the branch of *Rhododendron schlippenbachii*.

Solvent Extracts	SC ₅₀ [†] (μ g/ml)	Relative activity [‡] (%)
EX	0.24 \pm 0.07 ^{*c**}	46.06
CF	2.57 \pm 0.14 ^d	4.46
EF	0.21 \pm 0.06 ^b	55.17
BF	0.19 \pm 0.04 ^b	59.98
AF	8.20 \pm 1.03 ^e	1.40
AA	0.11 \pm 0.01 ^a	100.00

[†]SC₅₀; concentration of each samples for scavenging 50% of DPPH radical.

[‡]Relative activity; ratio of SC₅₀ value compared to positive control (ascorbic acid).

*Values are mean \pm SD (n = 3) without relative activity. EX; 50% Ethanol Extract, CF; Chloroform Fraction, EF; Ethylacetate Fraction, BF; Butanol Fraction, AA; Ascorbic Acid. Ascorbic acid was used as a positive control.

**Different superscript letters in the same column show significant differences at $p < 0.05$ by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

2004; Manach *et al.*, 2005), flavonoid 역시 대표적인 페놀성 화합물 중 하나로서 superoxide, hydroxy radical과 같은 세포손상을 초래하는 free radical을 없애주는 항산화 활성을 비롯하여 항암, 항균 등 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있다 (Dewick, 2002). 따라서 철쭉 가지 추출물의 ethyl acetate 분획이나 butanol 분획이 높은 polyphenol과 flavonoid 함량을 가지니는 것으로 보아 이와 관련된 생리활성을 나타낼 수 있을 것으로 판단된다.

2. DPPH radical 소거능

철쭉 가지 추출물 및 분획물의 기본적인 항산화 활성을 확인하기 위해 실시한 DPPH radical 소거능 측정에서 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 시료 농도를 나타내는 SC₅₀을 산출하여 Table 2에 나타내었다. Butanol과 ethyl

acetate 분획이 각각 0.19 $\mu\text{g/ml}$ 와 0.21 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타나 다른 분획과 추출물에 비해 높은 항산화 활성을 가지고 있음이 확인되었다. 이와 같은 결과는 positive control로 사용된 ascorbic acid의 SC_{50} 인 0.11 $\mu\text{g/ml}$ 를 기준으로 비교한 relative activity에 나타난 바와 같이 butanol과 ethyl acetate 분획이 각각 59.98%와 55.17%로 ascorbic acid의 소거능보다는 낮지만 상당한 수준의 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 이와 같은 항산화 활성은 Table 1의 polyphenol 함량과 관련하여 기존의 연구들에서 제시한 것과 마찬가지로 DPPH radical 소거능과 같은 항산화 활성이 polyphenol 화합물의 함량과 밀접한 관련이 있음을 나타내는 결과이다 (Oh *et al.*, 2010; Im and Lee, 2011a).

3. Nitric oxide 소거능

Nitric oxide (NO)는 혈액응고 및 혈압조절 기능, 암세포에 대한 면역기능 등이 있지만, 과량이 존재하면 인체에 유해한 영향을 미치게 되어 세포손상뿐만 아니라 염증 반응을 비롯한 뇌막염, 알츠하이머병과 파킨슨병 같은 퇴행성 질환에 중요한 요인으로 작용한다고 알려져 있으며, superoxide 음이온 (O_2^-)과 쉽게 반응하여 독성이 강하고 반응성이 높은 산화제인 peroxynitrite (ONOO^-)를 생성하게 된다 (Chung *et al.*, 2001; Radi *et al.*, 1991). 철쭉 가지 추출물 및 분획물의 NO 소거능을 측정한 결과에서 50%의 NO를 소거하는데 필요한 시료의 농도를 산출한 SC_{50} 값을 Table 3에 제시하였다. Ethyl acetate 분획의 SC_{50} 값이 0.56 $\mu\text{g/ml}$ 로 가장 높은 소거능을 보였으며, 다음으로 butanol 분획이 0.60 $\mu\text{g/ml}$ 의 SC_{50} 을 나타냈다. Positive control로 사용된 ascorbic acid의 SC_{50} 과 비교한 relative activity에서 ethyl acetate와 butanol의 소거능이 각각 141.80%와 131.55%로 ascorbic acid보다도 높은 소거능이 확인되었다. 이와 같은 결과는 철쭉 가지가 항산화 활성이나 항염증 활성 등 관련된 분야에서 활용이 가능한 소재임을 나타낸 것이라고 할 수 있다.

4. Tyrosinase 저해 활성

피부에 침착되는 색소인 melanin의 합성경로는 아미노산인 tyrosine이 tyrosinase에 의해 3,4-dihydroxyphenylalanin (DOPA)으로 hydroxylation되는 과정을 시작으로 DOPA-quinone, DOPA-chrome의 과정을 거쳐 합성된다. 따라서 미백 효과를 연구하는 분야에서 melanin 형성에 있어 중요한 단계에 관여하는 tyrosinase를 저해하는 활성을 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA-chrome을 비색법에 의해 측정하는 방법이 자주 활용된다 (Jung *et al.*, 1995; Im and Lee, 2011b). 철쭉 가지 추출물 및 분획물의 tyrosinase 저해 활성을 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. 측정 농도 구간에서 저해 활성을 확인할 수 없었던 chloroform과 aqueous 분획 제외한 ethyl acetate,

Table 3. Nitric oxide scavenging ability of the extract and fractions from the branch of *Rhododendron schlippenbachii*.

Solvent Extracts	$\text{SC}_{50}^\dagger(\mu\text{g/ml})$	Relative activity [‡] (%)
EX	0.98 ± 0.14 ^{*c**}	80.55
CF	-	-
EF	0.56 ± 0.08 ^a	141.80
BF	0.60 ± 0.08 ^a	131.55
AF	2.29 ± 0.42 ^d	34.46
AA	0.80 ± 0.10 ^b	100.00

[†] SC_{50} : concentration of each samples for scavenging 50% of nitric oxide.
[‡]Relative activity: ratio of SC_{50} value compared to positive control (ascorbic acid).
^{*}Values are mean ± SD (n = 3) without relative activity. EX; 50% Ethanol Extract, CF; Chloroform Fraction, EF; Ethylacetate Fraction, BF; Butanol Fraction, AA; Ascorbic Acid. Ascorbic acid was used as a positive control.
^{**}Different superscript letters in the same column show significant differences at $p < 0.05$ by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

Table 4. Tyrosinase inhibitory activity of the extract and fractions from the branch of *Rhododendron schlippenbachii*.

Solvent Extracts	$\text{IC}_{50}^\dagger(\mu\text{g/ml})$	Relative activity [‡] (%)
EX	1.53 ± 0.16 ^{*c**}	121.71
CF	-	-
EF	0.76 ± 0.06 ^a	246.63
BF	0.82 ± 0.10 ^b	226.85
AF	-	-
AB	1.87 ± 0.19 ^b	100.00

[†] IC_{50} : concentration of each samples for inhibiting 50% of tyrosinase.
[‡]Relative activity: ratio of IC_{50} value compared to positive control (arbutin).
^{*}Values are mean ± SD (n = 3) without relative activity. EX; 50% Ethanol Extract, CF; Chloroform Fraction, EF; Ethylacetate Fraction, BF; Butanol Fraction, AF; Aqueous Fraction, AB; Arbutin. Arbutin was used as a positive control. Different superscript letters in the same column show significant differences at $p < 0.05$ by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test.

butanol 분획 그리고 추출물의 tyrosinase 저해 활성이 positive control로 사용된 arbutin보다 높은 것으로 나타났다. 50%의 tyrosinase를 저해할 때 필요한 농도인 IC_{50} 에서 ethyl acetate와 butanol 분획 그리고 추출물이 각각 0.76 $\mu\text{g/ml}$, 0.82 $\mu\text{g/ml}$, 1.53 $\mu\text{g/ml}$ 을 나타냄으로써 positive control로 사용된 arbutin의 1.87 $\mu\text{g/ml}$ 보다도 높은 저해활성을 보였다. 특히 추출물 수준에서도 arbutin보다 높은 tyrosinase 저해활성을 보임으로써 미백 기능성을 확인하기 위해 활성물질 분리와 작용기전에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

5. MTT assay에 의한 세포독성

철쭉 가지 추출물 및 분획물의 Raw 264.7 세포에 대한 세포독성을 측정한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 200 $\mu\text{g/ml}$ 으로

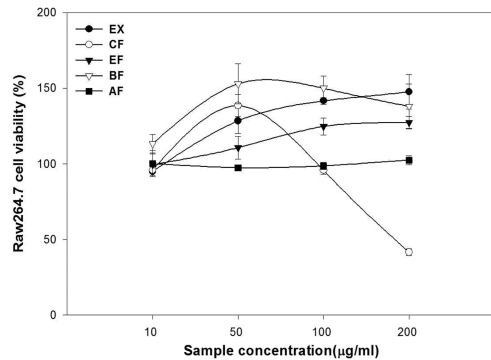


Fig. 1. Raw 264.7 cell viabilities of the extract and fractions from the branch of *Rhododendron schlippenbachii*. Values are mean \pm SD (n = 3). EX; 50% Ethanol Extract, CF; Chloroform Fraction, EF; Ethylacetate Fraction, BF; Butanol Fraction, AF; Aqueous Fraction.

chloroform 분획을 처리한 경우를 제외한 모든 시료의 세포생존율이 농도별로 89.09 ~ 151.27%의 세포생존율을 나타냄으로써 독성을 나타낼 가능성은 낮은 것으로 확인되었다. 그러나 철쭉의 독성에 대한 연구 보고와 관련하여 독성 물질의 제거나 저감 방안에 대해서도 추가적인 연구가 다양한 방법으로 실시되어야 할 것으로 판단된다 (Jeong *et al.*, 2009; Eo and Kwon, 2009).

이상의 결과에서 철쭉 가지 50% ethanol 추출물과 ethyl acetate 및 butanol 분획물에서 상당한 수준의 항산화 활성이 확인되었으며, arbutin보다도 높은 수준의 tyrosinase 저해 활성을 가지는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 피부미백이나 항산화 활성이 요구되는 분야의 소재로서 철쭉 가지가 활용될 수 있음을 보여주는 것이라 판단된다.

REFERENCES

Blois MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200.

Byun SH, Yang CH and Kim SC. (2005). Inhibitory effect of *Scrophulariae Radix* extract on TNF- α IL-1 β , IL-6 and nitric oxide production in lipopolysaccharide activated Raw 264.7 cells. *Korean Journal of Herbology*. 20:7-16.

Chung HT, Pae HO, Choi BM, Billiar TR and Kim YM. (2001). Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 282:1075-1079.

Dewick PM. (2002). Medicinal natural products. Wiley & Sons. Chichester, England. p.149-151.

Eo KY and Kwon OD. (2009). *Rhododendron* poisoning in sheep and goats. *Journal of Veterinary Clinics*. 26:344-347.

Im DY and Lee KI. (2011a). Antioxidative, antibacterial activity and tyrosinase inhibitory activity of the extract and fractions

from *Taraxacum coreanum* Nakai. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 19:238-245.

Im DY and Lee KI. (2011b). Nitric oxide production inhibitory and scavenging activity and tyrosinase inhibitory activity of extracts from *Taraxacum officinale* and *Taraxacum coreanum*. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 19:362-367.

Jeong SM, Lee SH, Lim JS, Yoon SY, Ryu S, Lee JW, Kim SW, Yoo IS and You YH. (2009). A case of systemic toxicity that occurred in an adult who intentionally ingested *Rhododendron schlippenbachii*. *Journal of the Korean Society of Clinical Toxicology*. 7:180-182.

Jung SW, Lee NK, Kim SJ and Han DS. (1995). Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 27:891-896.

Liu RH. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *Journal of Nutrition*. 34:79S-3485S.

Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A and Remesy C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*. 81:230S-242S.

Marcocci L, Maguire JJ, Droy-Lefaix MT and Packer L. (1994). The nitric oxide-scavenging properties of *Ginkgo biloba* extract EGb 761. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 201:748-755.

Moreno MIN, Sampietro AR and Vattuone MA. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*. 71:109-114.

Oh YJ, Seo HR, Choi TM and Jung DS. (2010). Evaluation of antioxidant activity of the extracts from the aerial parts of *Cnidium officinale* Makino. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 18:373-378.

Otto F and Denis W. (1912). On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *Journal of Biological Chemistry*. 12:239-243.

Popescu R and Kopp B. (2013). The genus *Rhododendron*: An ethnopharmacological and toxicological review. *Journal of Ethnopharmacology*. 147:42-62.

Radi R, Beckman JS, Bush KM and Freeman BA. (1991). Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls, the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Journal of Biological Chemistry*. 266:4244-4250.

Sancheti S, Sancheti S, Lee SH, Lee JE and Seo SY. (2011). Screening of Korean medicinal plant extracts for α -glucosidase inhibitory activities. *Italian Journal of Pharmaceutical Research*. 10:261-264.

Shin KM, Park YM, Kim IT, Hong SP, Hong JP and Lee KT. (2003). *In vitro* antiinflammatory activity of amygdalin in murine macrophage Raw 264.7 cells. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 34:223-227.

Videla LA and Fernandez V. (1988). Biochemical aspects of cellular oxidative stress. *Archivos De Biologia Y Medicina Experimentales*. 21:85-92.