

연방(蓮房)의 티로시나제 저해 활성을 보이는 성분분리

조현우¹ · 정원석¹ · 안병관^{1,2} · 조정희¹ · 정수영^{1*}

¹전라남도생물산업진흥재단 한방산업진흥원, ²원광대학교 약학대학 한약학과

Isolation of Compounds having Inhibitory Activity toward Tyrosinase from Receptaculum Nelumbinis

Hyun Woo Cho¹, Won Seok Jung¹, Byeong Gwan An^{1,2}, Jung Hee Cho¹ and Su Young Jung^{1*}

¹Jeollanamdo Development Institute for Korean Traditional Medicines, 756, Gisanri, Anyangmeon, JangHeung-gun, Jeonnam 529-851, Korea

²Department of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksandae-ro, Iksan, Jeonbuk 570-749, Korea

Abstract – *Nelumbo nucifera* Gaerth. (Nymphaeaceae) has been used in a Korean traditional medicine to treat fever, sunstroke and dizziness. The receptaculum of this plant were refluxed with MeOH, and then fractionated with organic solvents (CH₂Cl₂, EtOAc and *n*-BuOH) to screen whitening activity using tyrosinase inhibitory activity. EtOAc (IC₅₀, 45.23 µg/ml) fractions showed a good tyrosinase inhibitory activity. Column chromatographic separation of CH₂Cl₂ and EtOAc fractions of Receptaculum nelumbinis led to the isolation 3 compounds. Their chemical structures were characterized as β-sitosterol (1), quercetin 3-*O*-β-D-galactopyranoside (2) and kaempferol 3-*O*-β-D-glucopyranoside (3) by comparison NMR spectral data and with those in references, respectively. Isolated compounds 1 and 3 were firstly isolated from Receptaculum nelumbinis. Compounds 2 and 3 showed potent whitening activities.

Key words – Receptaculum nelumbinis, Flavonoid, Quercetin 3-*O*-β-D-galactopyranoside, Kaempferol 3-*O*-β-D-glucopyranoside, Tyrosinase inhibitory activity

Tyrosinase는 구리이온을 함유하는 metal protein이며, 이 효소는 생체 내에서 monohydroxyphenol을 *O*-dihydroxyphenol로 산화시키는 tyrosine oxidase로서의 기능과, *O*-dihydroxyphenol을 *O*-quinone으로 산화시키는 DOPA oxidase로서의 기능을 촉매한다.¹⁾

멜라닌 생성 저해물질은 크게 두 가지 유형으로 분류하고 있다. 그 하나는 멜라닌 생성의 주효소인 tyrosinase 활성을 직접 저해하는 유형이고, 또 하나는 세포로부터 분리한 tyrosinase에 대해서는 직접적인 저해를 나타내지 않지만 생성된 세포내에서 멜라닌 생성을 저해하는 유형이다. 따라서 피부 멜라닌 생성 저해제 개발에 tyrosinase 활성저해작용을 갖는 물질 또는 피부 melanoma cell에 직접 작용하여 멜라닌 생성을 저해하는 물질의 개발에 초점이 맞추어지고 있다.

현재까지 보고된 melanin 중합체 생합성 억제 미백제는

arbutin, kojic acid 등과 같은 tyrosinase 활성 저해제와 활성 산소종을 소거하는 ascorbic acid 및 유도체 coenzyme Q10 등이 미백효과가 있는 것으로 알려져 있다.²⁾

연방(蓮房)은 연봉각(蓮蓬殼)이라고도 불리며, 수련과(Nymphaeaceae) 식물인 연(*Nelumbo nucifera* G.)의 성숙한 꽃받침(花托)이다. 윗면에는 열매를 따 버린 후 남은 원형의 구멍이 있어 벌집 모양을 이루며 기부에는 꽃자루의 남은 기부가 있다. 질은 연하여 해면과 같고 향기가 없으며 맛은 떫다.³⁾

국내 연재배 지역 중 전남은 주로 백련을 재배하고 있으며, 재배면적은 2007년 기준 69ha이며 경남, 경북 다음으로 재배를 많이 하고 있다.⁴⁾

동의보감(東醫寶鑑)에서 연은 ‘갈증을 멎게 하고 태반을 나오게 하며 버섯으로 인한 심독(毒)을 풀어 주고 혈창(血脹)으로 배가 아픈 것을 치료한다.’고 기록되어 있다.⁵⁾ 또한, 한의학에서 연의 종자를 연자(蓮子)라 하며 구리(久痢), 부인붕루체하(婦人崩漏帶下) 등의 치료에 사용하고, 근경인

*교신저자(E-mail): green---tea@hanmail.net
(Tel): +82-19-336-4219

우절(藕節)은 토혈(吐血), 비출혈(鼻出血) 등의 치료에 각각 사용한다.⁶⁾

연에서 분리된 생리활성 성분으로는 isoquercitrin, rutin, kaempferol 등의 flavonoid와 nuciferine, nelumboside 등의 alkaloid, 식물호르몬인 dihydrophaseic acid 등이 있으며,⁷⁻⁹⁾ 인슐린 분비촉진, 항산화, 항비만 효과 등의 생리활성이 보고되어있다.¹¹⁻¹⁵⁾

본 연구는 연방의 뷰티미용소재로서의 효능과 화합물의 조성에 관한 연구의 일환으로 티로시나제 저해활성을 측정하였으며, silica gel, 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 행하여 3종의 화합물을 분리한 후, NMR 분석을 통해 화학구조를 동정하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 실험에 사용한 연방은 2011년 8월 전남 무안에서 직접 재배한 것을 구입 음건하여 사용 하였으며 표준품(JKTM-2011-01)은 전라남도한방산업진흥원 표본실에 보관 중이다.

시약 및 기기 - 분리한 화합물의 NMR 분석은 Bruker사의 AMX-400 spectrophotometer(Germany)를 사용하여 400 MHz(¹H-NMR)와 100.5 MHz(¹³C-NMR)에서 측정하였으며, chemical shift는 내부표준물질로 TMS를 사용하여 측정하였다. 그리고 column chromatography용 충전제로는 순상 silica gel 60(70-230 mesh, No. 7734, Merck, Germany) 및 Sephadex LH-20(25-100 μ , Sigma, U.S.A)을 사용하였다. TLC plate는 Merck사의 Kiesel gel 60 F₂₅₄ (No. 5735, Germany)를 사용하였으며, 용매 및 기타 시약은 특급 또는 1급 시약을 사용하였다.

추출 및 분획 - 음건 세절한 연방 4.5 kg을 MeOH에 3시간 동안 3회 반복 환류냉각 열탕추출하여 얻은 용액을 여과한 후, 감압농축기로 용매를 제거하여 추출물 765 g을 얻었다. 이 MeOH 추출물에 10% MeOH을 가해 현탁시킨 후, 분액여두를 이용하여 CH₂Cl₂, EtOAc, n-BuOH, H₂O 순으로 계통분획하고 각각 감압농축하여 CH₂Cl₂ 분획물 237 g, EtOAc 분획물 34 g, n-BuOH 분획물 53 g, H₂O 분획물 352 g을 얻었다.

Tyrosinase 저해 활성 측정 Tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 방법으로 tyrosinase 저해 활성을 측정하였다.¹⁶⁾ 0.1M phosphate buffer 100 μ l와 농도별 시료 액 50 μ l를 혼합하여 5분간 실온에서 반응시켰다. 반응 액에 0.1M phosphate buffer에 용해시킨 tyrosinase(100 unit/ml) 50 μ l와 1.5 mM tyrosine 50 μ l를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 완료되면 490 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 buffer 용액을 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 저해 활성을 산출

하였고, positive control로 kojic acid를 사용하였다. 티로시나제 저해 활성은 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도(IC₅₀)로 표시하였으며, 다음의 계산식을 사용하였으며 5회 반복 실험하여 데이터를 구하였다.

$$\text{Inhibitory activity (\%)} = \left\{ 1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{비첨가군의 흡광도}} \right\} \times 100$$

화합물 분리 - 연방 CH₂Cl₂ 분획물 30 g을 silica gel(70-230 mesh, 450 g)이 충전된 column(5.0×79.0 cm)에 로딩시키고 유출용매로 CH₂Cl₂-MeOH-H₂O 혼합용매(5:1:1, 25:8:5, 7:3:1, 65:35:10, 하층)를 사용하여 점차적으로 극성을 증가시키면서 용출하여 TLC 패턴에 따라 5개의 subfraction으로 나누었다(NRM1~5). NRM2 fraction은 Sephadex LH-20을 충전한 column에 로딩시킨 후 acetone을 유출시켜 화합물 1을 단일물질로 분리하였다. 또한 연방 n-EtOAc 분획물 50 g을 CH₂Cl₂와 CH₂Cl₂-MeOH-H₂O 혼합용매(5:1:1, 25:8:5, 7:3:1, 65:35:10, 하층)로 용출하는 silica gel(70-230 mesh, 550 g) column(5×79.0 cm) chromatography를 하여 5개의 subfraction을 얻었으며(NRE1~5), subfraction 2(NRE2)를 용출용매로 acetone을 사용한 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 화합물 2를 순수하게 분리하였다. NRE4 fraction에 대하여 acetone으로 용출한 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 화합물 3을 단일물질로 분리하였다.

화합물 1(β -sitosterol) - 50% H₂SO₄에서 적자색으로 발색함. ¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ 5.36(1H, d, J =5.2Hz, H-6), 3.53(1H, m, H-3), 2.29(2H, d, J =8.4Hz, H-4), 2.01(2H, t, J =6.6Hz, H-12), 1.02(3H, s, H-19), 0.94(3H, d, J =6.5Hz, H-21), 0.85(3H, d, J =6.5Hz, H-26), 0.81(3H, t, J =5.5Hz, H-29), 0.70(3H, s, H-18); ¹³C-NMR(CDCl₃, 100.5 MHz) δ 140.6(C-5), 121.7(C-6), 71.8(C-3), 56.8(C-14), 56.0(C-17), 50.2(C-9), 45.9(C-24), 42.3(C-13), 42.2(C-4), 39.8(C-12), 37.2(C-1), 36.5(C-10), 36.1(C-20), 33.9(C-22), 31.9(C-7&8), 31.7(C-2), 29.1(C-25), 28.2(C-16), 26.1(C-28), 24.3(C-15), 23.1(C-23), 21.0(C-11), 19.7(C-26), 19.3(C-27), 19.05(C-19), 18.8(C-21), 12.0(C-18), 11.9(C-29).

화합물 2(querctin 3-O- β -D-galactopyranoside) - ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.64(1H, dd, J =2.1 & 8.2 Hz, H-6'), 7.51(1H, d, J =2.1 Hz, H-2'), 6.82(1H, d, J =8.2 Hz, H-5'), 6.39(1H, d, J =2.01 Hz, H-8), 6.21(1H, d, J =2.01 Hz, H-6), 5.35(1H, d, J =7.68 Hz, H-1"); ¹³C-NMR(100.5 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 177.3(C-4), 164.2(C-7), 161.2(C-5), 156.0(C-9), 156.0(C-2), 148.2(C-4'), 144.5(C-3'), 133.2(C-3), 121.7(C-1'), 121.1(C-6'), 115.7(C-5'), 115.3(C-2'), 103.9(C-10), 101.8(C-1"), 98.7(C-6), 93.4(C-8), 75.7(C-5"),

73.3(C-3"), 71.2(C-2"), 67.6(C-4"), 60.2(C-6").

화합물 3(kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside) – ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.03(2H, d, *J*=8.7 Hz, H-2', 6'), 6.88(2H, d, *J*=8.7 Hz, H-3', 5'), 6.42(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.53(1H, d, *J*=7.1 Hz, H-1"); ¹³C-NMR(100.5 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.5(C-4), 164.4(C-7), 160.8(C-5), 159.7(C-4'), 156.4(C-2, 9), 133.5(C-3), 130.9(C-2', 6'), 120.8(C-1'), 115.1 (C-3', 5'), 103.8(C-10), 100.7(C-1"), 98.8(C-6), 93.5(C-8), 77.5(C-5"), 76.4 (C-3"), 74.1(C-2"), 69.8(C-4"), 60.8(C-6").

결과 및 고찰

MeOH 추출물과 분획물의 티로시나제 활성 억제능 – 연방의 MeOH 추출물과 분획물(CH₂Cl₂, EtOAc, *n*-BuOH)을 대상으로 티로시나제 활성 억제능을 이용한 미백효능을 검색하였다(Table I). 실험결과, MeOH 추출물의 IC₅₀ 값이 50.43 μg/ml로서 티로시나제 활성 억제능을 보였으며, 분획물인 CH₂Cl₂ 분획물은 100 μg/ml 이상, EtOAc 분획물은 45.23 μg/ml 그리고 *n*-BuOH 분획물은 200 μg/ml 으로 EtOAc 분획물에서 가장 우수한 티로시나제 활성 억제능을 보였다. 티로시나제 억제능이 높은 EtOAc 분획물과 CH₂Cl₂ 분획물을 대상으로 silica gel 및 Sephadex LH-20을 충전제로 사용한 column chromatography를 실시하여 3종의 화합물을 단일물질로 분리하였다.

분리된 화합물의 구조동정 – NRM2 fraction에서 분리된 화합물 1은 TLC에 전개하고 50% H₂SO₄ 발색 시 자주색으로 발색되었다. ¹H-NMR spectrum에서 δ 5.36의 signal로부터 1개의 olefinic methine기를 확인하였으며, δ 3.53의 signal로부터 oxygenated methine기를 확인하였다.

그리고, δ 2.29~1.02 signal로부터 다수의 methylene 과 methine proton 을 확인하였으며, δ 1.02(3H, s), 0.70(3H, s)에서 2개의 siglet, δ 0.94(3H, d, *J*=6.5Hz), δ 0.85(3H, d, *J*=6.5Hz)에서 2개의 doublet 그리고 δ 0.81(3H, t, *J*=5.5Hz)에서 1개의 triplet proton signal을 확인하였다.

¹³C-NMR spectrum에서 탄소수가 29개이고 methyl carbon

Table I. Tyrosinase inhibitory activity of MeOH extract and its fractions of the Receptaculum Nelumbinis

Sample	IC ₅₀ (μg/ml) ^{a)}
MeOH ext.	50.43±3.6
CH ₂ Cl ₂ fr.	120±14.0
EtOAc fr.	45.23±2.1
<i>n</i> -BuOH fr.	210±16.3

^{a)}Concentration giving a 50% decrease of tyrosinase inhibitory activity. Mean±S.E. (n=5)

이 6개 관측된 점으로부터 sterol 화합물인 것을 확인하였다. 그리고 δ 140.6, 121.7의 signal로부터 이중결합이 존재하는 것을 확인 하였다. δ71.8로부터 oxygenated methine carbon 임을 확인하였으며, δ 21.0, 19.7, 19.3, 19.05, 18.8, 12.0, 11.9에서 6개의 methyl carbon을 확인하였다. 따라서 화합물 1은 문헌치¹⁷⁾와 비교해서 β-sitosterol로 동정하였다.

NRE2 fraction에서 분리된 화합물 2는 50% H₂SO₄을 이용한 정성반응에서 양성을 나타내었다. 그리고 ¹H-NMR spectrum에서 flavonoid의 전형적인 peak로 δ 7.64(1H, dd, *J*=2.1 & 8.2 Hz, H-6'), δ 7.51(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-2'), δ 6.82(1H, d, *J*=8.2 Hz, H-5')에서 B-ring의 ortho, meta coupling하는 3개의 proton peak가 관측되었고, δ 6.39(1H, d, *J*=2.01 Hz, H-6)과 δ 6.21(1H, d, *J*=2.01 Hz, H-8)에서 A-ring의 meta coupling하는 proton peak가 관측되었다. 또한 δ 5.35(1H, d, *J*=7.68 Hz, H-1")에서 β-form인 당의 anomeric proton에 의한 doublet peak가 관측되어 배당체 화합물임을 알 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 1 mole의 당은 galactose[101.8(C-1"), 75.7(C-5"), 73.3(C-3"), 71.2(C-2"), 67.6(C-4"), 60.2(C-6")]¹⁰⁾임을 확인하였다. 따라서 화합물 2는 문헌치¹⁸⁾와 비교해서 quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside (hyperoside)로 동정하였다.

화합물 3은 50% H₂SO₄을 이용한 정성반응에서 양성을 나타내었다. 그리고 ¹H-NMR spectrum에서 화합물 2와 마찬가지로 flavonoid의 전형적인 peak로 δ 8.03(2H, d, *J*=8.7 Hz, H-2', 6'), δ 6.88(2H, d, *J*=8.7 Hz, H-3', 5')에서 B-ring의 ortho coupling하는 2개의 proton peak가 관측되었고, δ 6.42(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8)과 δ 6.20(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6)에서 A-ring의 meta coupling하는 proton peak가 관측되었다. 또한, δ 5.53(1H, d, *J*=7.1 Hz, H-1")에서 β-form인 당의 anomeric proton에 의한 doublet peak가 관측되어 배당체 화합물임을 알 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 1 mole의 당은 glucose [100.7(C-1"), 77.5(C-5"), 76.4(C-3"), 74.1(C-2"), 69.8(C-4"), 60.8(C-6")]¹⁰⁾임을 확인하였다. 따라서 화합물 3은 문헌치¹⁹⁾와 비교해서 kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside(astragalín)로 동정하였다.

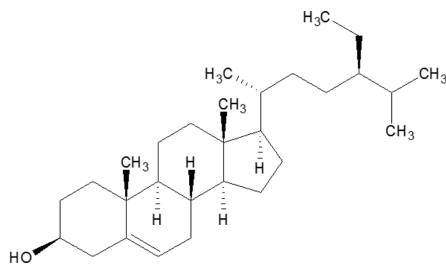
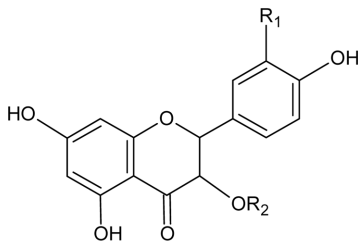
분리된 화합물의 티로시나제 활성 억제능 – 분리한 3종 화합물을 대상으로 티로시나제 활성 억제능을 이용한 미백효과를 검색하였다(Table II). 실험결과, 화합물 1(β-sitosterol)은 IC₅₀ 값이 300 μg/ml 이상이였으며, 화합물 2(hyperoside)은 15.67 μg/ml, 화합물 3(astragalín)은 21.22 μg/ml로서 화합물 2와 3은 우수한 티로시나제 활성을 억제하는 성분으로 확인하였다.

분리한 3종 화합물은 자연계에 널리 분포하는 화합물로 이들 화합물에 대한 많은 연구결과가 보고되어 있다. β-sitosterol은 텍사(*Nasturtium officinale*), 이엽우피소(*Cynanchum auriculatum*), 숙지황, 비타민나무(*Hippophae rhamn-*

Table II. Tyrosinase inhibitory activity of the isolated compounds from the Receptaculum Nelumbinis

Compound	IC ₅₀ (μg/ml) ^{a)}
1	335±15.1
2	15.67±1.5
3	21.22±1.8
ascorbic acid	10.35±0.9

^{a)}Concentration giving a 50% decrease of tyrosinase inhibitory activity. Mean±S.E. (n=5)

**Compound 1**

Compound	R ₁	R ₂	R ₃
2	OH	galactose	OH
3	H	glucose	OH

Fig. 1. Chemical structures of compounds isolated from the Receptaculum Nelumbinis

noides L.) 등에서 분리되었으며²⁰⁻²²⁾ hyperoside는 삼지구엽초(*Epimedium koreanum*), 어수리(*Heracleum moellendorffii*), 층층나무(*Cornus controversa*) 등에서 분리 되었으며, 항산화 효과와 혈관신생 억제 효과가 보고되었다.²³⁻²⁵⁾ 또한, Astragalin은 산마늘(*Allium victorialis*) 두충나무(*Eucommia ulmoides*), 자원(*Aster tataricu*), 병꽃나무(*Weigela subsessilis*) 등에서 분리되었으며 소염활성, 면역조절효과 등이 보고되었다.²⁶⁻²⁹⁾

결 론

연은 오래전부터 의약품과 식품 소재로서 널리 이용되고 있다. 연잎은 백련차 또는 연잎차라 하여 시판되고 있다. 또

한 연근은 식용소재로서 조림이나 과자류로 개발되어 각광을 받고 있다. 그러나 연방은 거의 사용이 전무하며 연 재배 후 연자를 제거한 부산물로서 그 사용방안에 대한 연구는 전혀 없었다. 그래서 연방을 화장품 소재로서 개발하기 위한 지표물질탐색과 효능을 규명하기 위해 먼저 MeOH 추출물과 유기용매 분획물을 대상으로 티로시나제 활성 억제능을 이용한 미백 효능을 검색한 결과 CH₂Cl₂ 분획물과 EtOAc 분획물이 우수한 효과를 나타내었다.

티로시나제 활성 억제능을 보인 CH₂Cl₂ 분획물과 EtOAc 분획물을 silica gel 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복하여 3종 화합물을 단일물질로 분리하였다. 분리한 3종 화합물은 NMR 분석을 통해 β-sitosterol(1), hyperoside(2) 및 astragalin(3) 으로 구조동정하였으며, β-sitosterol 및 astragalin은 연방에서 처음 분리된 화합물이다.

그리고 분리한 3종 화합물을 대상으로 티로시나제 활성 억제능을 검색한 결과, hyperoside(2) 및 astragalin(3)가 우수한 미백활성을 나타냈으며, 화장품 소재 개발을 위하여 향후 화합물의 멜라닌 생합성 억제능과 TRP-1, 2 유전자 발현 억제능 등의 연구가 필요하다 하겠다.

사 사

본 연구는 2010년도 보건복지부 한의약산업육성을 위한 제품개발 연구사업 (106010-02-2-CG000)의 지원으로 수행되었기에, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Mayer A. M. (1987) Polyphenol oxidases in plants recent progress. *Phytochemistry* **26**: 11-20.
- 박상기, 박선주, 진태연, 김경란, 장미엽 (2009) 화장품학, 65, 도서출판 대경, 서울.
- 김창민 (1997) 중약대사전, 2943-2944, 정담, 서울.
- 박삼균 (2010) 농어촌활력증진 연구개발사업 결과보고서, 25, 무안군농업기술센터.
- 허준 (2004) 원본동의보감, 710, 남산당, 서울.
- Park, C. H. (2008) Isolation of bioactive compounds from *Nelumbo nucifera* leaves and their radical scavenging and tyrosinase inhibitory effects. *Sunchon Univ. Master's Thesis*. p. 11.
- Furukawa, H. (1966) On the alkaloids of *Nelumbo nucifera* Gaertn. XII. alkaloids of Loti Embryo. *Yakugaku Zasshi* **86**: 75-77.
- Kashiwada, Y., Aoshima, A., Ikeshiro, Y., Chen, Y. P., Furukawa, H., Itoigawa, M., Fujioka, T., Mihashi, K., Cosentino, L. M., Morris-Natschke, S. L. and Lee K. H. (2005) Anti-HIV benzyloquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera* and structure activity cor-

- relations with related alkaloids. *Bioorg. Med. Chem.* **13**: 443-448.
9. Seo, J. H., Choi, Y. H., Yoo, M. Y., Hong, K. S., Lee, B. H., Yon, G. H., Kim, Y. S., Kim, Y. K. and Ryu, S. Y. (2006) Isolation of dihydrophaseic acid from seed extract of *Nelumbo nucifera*. *Kor. J. Pharmacogn.* **37**: 290-293.
 10. Kim, S. B., Rho, S. B., Rhyu, D. Y. and Kim, D. W. (2005) Effect of *Nelumbo nucifera* leaves on hyperlipidemic and atherosclerotic Bio F1B Hamster. *Kor. J. Pharmacogn.* **36**: 229-234.
 11. Ono, Y., Hattori, E., Fukaya, Y., Imai, S. and Ohizumi, Y. (2006) Anti-obesity effect of *Nelumbo Nucifera* leaves extract in mice and rats. *J. Ethnopharmacol.* **106**: 238-244.
 12. Ko, B. S., Jun, D. W., Jang, J. S., Kim, J. H. and Park, S. M. (2006) Effect of *Sasa borealis* and white lotus root and leaves on insulin action and secretion *in vitro*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**: 144-120.
 13. Moon, J. H., Tsushida, T., Nakahara, K. and Terao, J. (2001) Identification of quercetin 3-O-β-D-glucuronide as an antioxidative metabolite in rat plasma after oral administration of quercetin. *Free Radic. Biol. Med.* **30**: 1274-1285.
 14. Akbay, P., Basaran, A. A., Undeger, U. and Basaran, N. (2003) In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytother. Res.* **17**: 34-37.
 15. Ahmed, M. S., El Tanbouly, N. D., Islam, W. T., Sleem, A. A. and El Senousy, A. S. (2005) Antiinflammatory flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw. flowers growing in Egypt. *Phytother. Res.* **19**: 807-808.
 16. 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**(6): 891-896.
 17. 이승호, 손건호, 배기환, 이정준, 박영인, 최재수, 김영중, 강삼식, 신승원, 김진웅 (2006) 한약재성분 분광분석자료집, 21, 192, 288, 도서출판 우림, 서울.
 18. Jo, H. W., Park, J. C. (2008) Phenolic Compounds Isolated from the Leaves of *Angelica keiskei* Showing DPPH Radical Scavenging Effect. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 146-149.
 19. Zahida, P., Yulin, D., Muhammad, S., Rongji, D., Waqar, A. and Yu, H. Y. (2007) Antiinflammatory and Analgesic Activities of *Thesium chinense* Turcz Extracts and its Major Flavonoids, Kaempferol-3-o-glucoside. *Yakugaku zasshi.* **127**: 1275-1279.
 20. Choi, H. G., Jiang, Y. B., Roh, E. M. R., Kim, Y. S., Her, G. H., Na, M. K., Lee, S. H. (2010) Constituents of *Cynanchum auriculatum* and their inhibitory effect on melanogenesis in B16 mouse melanoma cell lines. *Kor. J. Pharmacogn.* **41**: 238-244.
 21. Lee, J. Y., Lee, E. J., Kim, J. S., Lee, J. H. and Kang, S. S. (2011) Phytochemical studies on *Rehmanniae Radix Preparata*. *Kor. J. Pharmacogn.* **42**: 117-126.
 22. Park, Y. H., Lim, S. H., Ham, H. J., Kim, H. Y., Jeong, H. N., Kim, K. H. and Kim, S. M. (2010) Isolation of anti-inflammatory active substance β-sitosterol from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) stem. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **39**: 980-985.
 23. Lee, T. S., Cho, J. H. and Hwang, B. H. (2005) Extractives from *Epimedium koreanum* Nakai. *J. Kor. For. En.* **24**: 16-23.
 24. Park, H. J., Nugroho, A., Jung, B. R., Won, Y. H., Jung, Y. J., Kim, W. B. and Choi, J. S. (2010) Isolation and quantitative analysis of flavonoids with peroxynitrite scavenging effect from the young leaves of *Heracleum moellendorffii*. *Korean J. Plant Res.* **23**: 393-398.
 25. Lee, D. H., Lee, S. H., Chung, S. R., Ro, J. S. and Lee, K. S. (1995) Phenolic components from the leaves of *Cornus controversa* H(1). *Kor. J. Pharmacogn.* **26**: 327-336.
 26. Lee, H. J., Lee, S. K., Choi, Y. J., Jo, H. J., Kang, H. Y., Lee, S. S. and Choi, D. H. (2007) Extractives from the *Allium victorialis*. *Jour. Korean For. Soc.* **96**: 620-624.
 27. Park, J. C. and Kim, S. H. (1995) Flavonoid analysis from the leaves of *Eucommia ulmoides*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**: 901-905.
 28. Choi, D. Y., Choi, E. J., Jin, Q., Shin, J. E. and Woo, E. R. (2009) Biological activity of flavonoids isolated from *Aster tataricus* L. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 123-127.
 29. Won, H. M., Hwon, Y. S., Lee, J. H. and Kim, C. M. (2004) Chemical constituents of the leaves of *Weigela subsessilis*. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**: 1-5.

(2012. 10. 11 접수; 2012. 11. 27 심사; 2013. 1. 11 게재확정)