

榆皮와 刺榆皮의 抗酸化 효능에 대한 연구

金潤相[#], 成洛戌¹, 李暎鍾^{*}

暎園大學校 韓醫科大學 本草學教室, 1: 농촌진흥청 작물과학원

A Study on the Anti-Oxidation Effects of Ulmi Cortex and Hemipteleae Cortex

Kim, Yun-sang[#], Seong, Nak-Sul¹, Lee, Young-Jong^{*}

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University
Seongnam 461-701, Korea

1: National Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT

Objectives : This studies were carried out to evaluate the effects on anti-oxidation activities in different parts as trunk bark and root bark of *Ulmus davidiana* Planchon. var. *japonica* Nakai and *Hemipteleae davidii* (Hance) Planchon.

Methods : For evaluation of antioxidative effects, scavenging activity on superoxide anion radical and DPPH radical were measured. Also, inhibitory activity on LDL oxidation and linoleic acid peroxidation were measured in each samples. In the *in vivo* test, inhibitory activity on TBARS production, GSH contents in rat liver were measured. SOD, Catalase, GSH-px and ALDH activity were analysed in ethanol extracts of Ulmi Radicis Cortex.

Result :

1. Scavenging activity on superoxide anion radical was higher in water extract than in ethanol extract even in low concentration of 50ppm as over 90%.
2. There was no difference between water extract and ethanol extract in the scavenging activity on DPPH radical but, Ulmi Radicis Cortex and Ulmi Trunci Cortex showed high effect even in low concentration of 10ppm.
3. GSH reduction was prevented and antioxidative activity such as Mn-SOD, GSH-px in the rat liver recovered in the treatment of ethanol extracts of Ulmi Radicis Cortex.

Conclusion : Ulmi Radicis Cortex recorded as Ulmi Trunci Cortex in official regulation book. But, it was known that Ulmi Radicis Cortex was more effective than Ulmi Trunci Cortex in most physical activities.

Key words : Ulmi Radicis Cortex, Ulmi Trunci Cortex, Hemipteleae Radicis Cortex, Hemipteleae Trunci Cortex, Superoxide, Scavenging activity.

*교신저자: 이영중, 경원대학교 한의과대학 본초학교실 E-mail: garak@kyungwon.ac.kr Tel: 031-750-5415

[#]제1저자: 김윤상, 경원대학교 한의과대학 본초학교실

· 접수 : 2005년 4월 9일 · 수정 : 2005년 6월 16일 · 채택 : 2005년 6월 20일

서론

榆皮는 《神農本草經》¹⁾ 上品에 “榆皮,味甘平. 主大小便不通,利水道,除邪氣.久服,輕身不飢,其實尤良.一名零榆.生山谷.”이라고 처음 수록된 이래 利水,通淋,消腫의 효능으로 小便不通,淋濁,水腫,癰疽發背,丹毒,疥癬 등의 증상을 치료하는 데 상용하고 있다.²⁾

榆皮의 기원 식물로 《대한약전의한약규격집》³⁾ 에는 느릅나무과(Ulmaceae)에 속하는 느릅나무 *Ulmus macrocarpa* Hance 의 코르크층을 벗긴 樹皮로 수록되어 있으나, 북한약전⁴⁾에는 같은 식물의 뿌리속껍질로 되어 있으며, 타이완의 《中華民國中藥典範》⁵⁾에는 같은 속 식물인 비슬나무 *U. pumila* Linne 의 樹皮 혹은 根皮의 鞣皮部로 되어 있고, 중국에서는 중국약전에 수재되어 있지 않지만, 《中華本草》⁶⁾ 등에 타이완의 공정서와 같이 榆白皮라 하여 비슬나무의 수피 또는 근피로 되어 있어 우리나라와 북한, 중국에서 榆皮의 기원식물과 약용부위가 서로 다르다.

또한 刺榆皮는 《本草綱目》⁷⁾에서 “《陳藏器》曰,江東에는 大榆가 없고, 刺榆가 있다. 가을에 열매를 맺는다. 刺榆는 皮가 滑利하지 않다.”라고 수재된 바와 같이 《本草拾遺》에 처음으로 榆皮와 구별되어 수재되었으며, 임상에서 解毒消腫의 효능이 있어 水腫,利尿,瘡腫,濕疹,結核,安胎 등을 치료한다.⁸⁾

刺榆皮의 기원식물은 《中華本草》⁶⁾에 느릅나무과(Ulmaceae)에 속하는 시무나무 *Hemiptelea davidii* (Hance) Planchon (= *Planera davidii* Hance., *Zelkova davidii* Bean)의 수피와 근피로 되어 있는데, 시무나무는 樹皮에 가시가 있어 느릅나무와 구별된다.

榆皮와 刺榆皮의 기원식물은 모두 느릅나무과이며 느릅나무과 식물은 북반구가 主産으로 약 15屬 200種이 있다고 보고되어 있고,⁸⁾ 우리나라에서는 5屬 33種이 있는 것으로 조사되었는데,⁹⁾ 이처럼 榆皮의 기원식물로 사용될 수 있는 식물이 매우 많다. 《本草綱目》⁷⁾에서도 “느릅나무(榆)의 종류가 많아 莢榆,白榆,刺榆,榔榆 등으로 사람들이 혼란을 일으킨다.”고 하였고, “榆樹有刺者 稱刺榆”라 하여 榆皮와 刺榆의 기원식물이 함께 사용되고 있음을 이야기하고 있다. 또 《本草求真》¹⁰⁾에서도 榆皮를 赤,白으로 나누어 白榆皮는 ‘止喘除咳 使人睡’하는 효능이 있고 赤榆皮는 ‘除邪氣’하는 효능이 있다고 구

별한 것처럼 榆皮의 기원식물은 本草文獻에서도 다양함이 설명되고 있다.¹¹⁾

이와 같이 榆皮의 기원식물로 榆와 刺榆가 있으며, 또 榆와 刺榆는 약용부위로 수피와 근피가 함께 사용되고 있는 상황에서 榆皮와 刺榆皮의 효능을 약용부위별로 검토할 필요가 있다.

이에 본 저자는 현재 시중에 유통되는 榆皮와 刺榆皮가 樹皮와 根皮로 구별되는 점에 착안하여 樹皮와 根皮에 대한 항산화효과를 비교 검토하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 느릅나무 *U. davidiana* var. *japonica* Nakai와 시무나무 *H. davidii* Planchon의 수피와 근피는 2003년 5월 충북 제천군 덕산면 도전리 산 21번지 임야에서 채취하여 농촌진흥청 작물시험장 약용작물연구실에서 동정 받은 후 세척, 음건, 분쇄하여 냉장실에 보관하면서 실험에 사용하였다.

2) 실험동물

in vivo 활성 검정을 위한 실험동물은 4주령의 체중 110-120g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 (SPF급)를 사용하였다.

3) 시약

항산화 활성분석에 사용된 시약으로 linoleic acid, α-tocopherol, DPPH (1,1-diphenylpicryl-2-hydrazyl), human LDL (low density lipoprotein), PMS (phenazine methoxy sulfate), NBT (nitroblue tetrazolium), NADH (nicotinamide adenine dinucleotide, reduced form), TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane), 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid), xanthine oxidase, glutathione reductase, 4-methyl pyrazole, NAD (nicotinamide adenine dinucleotide)를 Sigma(Sigma Aldrich, USA)에서 구입하였다.

4) 실험기기

N-1000 Rotary evaporator (Eyela, Japan)로 추출물을 감압농축하였고, linoleic acid, α 과산화 지해 반응은 SD 304 incubator (Samduck, Korea)로 항산화활성을 분석하였다. Cary 300 spectrophotometer (Varian, Australia)로 흡광도를 측정하였다.

2. 방법

1) 시료의 조제

in vitro 실험 및 *in vivo* 실험에 사용된 에탄올 추출물은 건조된 한약재 무게의 10배에 해당하는 80% 에탄올로 85°C에서 3시간씩 환류 추출, 여과과정을 2회 반복하고 감압 농축한 후 동결 건조하여 조제하였으며 물 추출물은 동일 용량의 증류수로 상온에서 24시간 진탕 추출, 여과하는 과정을 2회 반복한 후 동결 건조하여 조제하였고 그 수율을 측정하였다.

2) 항산화 활성 측정

(1) *in vitro* 실험

① 총 페놀 함량

시료 100 μ l와 2% Na₂CO₃ 2mL 및 50% Folin-Ciotalteau 시약 100 μ l를 혼합하고 30분 후 흡광도를 750nm에서 측정한 후 얻어진 흡광도를 tannic acid를 표준물질로 사용한 검량선에 근거하여 산출하였다.¹²⁾

② Superoxide 소거능

시료 500 μ l, 0.1M Tris-HCl 완충액 (pH 8.5) 100 μ l, 100 μ M PMS 200 μ l, 500 μ M NBT 200 μ l 및 500 μ M NADH 400 μ l를 가해 560nm에서 흡광도 측정하고 시료를 함유하지 않은 용매에 대한 소거율(%)로 결과를 나타내었다.¹³⁾

③ DPPH 소거능

1.5 $\times 10^{-4}$ M의 농도로 에탄올에 녹여 조제한

DPPH 반응액과 일정농도의 시료를 30 μ l를 첨가해 최종 부피가 3mL가 되게 혼합하고 3분 후에 517nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH 라디칼 소거능(%)을 산출하였다.¹⁴⁾

④ LDL 산화저해

DMSO에 녹인 시료 20 μ l, 50-100 μ g protein을 함유하는 LDL 25 μ l, 10 mM phosphate-buffered saline (PBS) 115 μ l 및 0.25 mM CuSO₄ 40 μ l를 혼합하여 37°C에서 3시간 동안 반응시킨 후 20% TCA 1mL 가해 반응을 중단시켰다. 0.05N NaOH에 녹인 0.67% TBA 1mL 가한 후 혼합하고 100°C에서 15분간 가열, 발색시킨 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 하였으며 얻어진 상등액 1mL을 semi-micro cuvette에 분주하고 540nm에서 생성된 MDA의 흡광도를 측정하여 용매에 대해 얻어진 흡광도에 대한 저해율(%)로 산화저해효과를 나타내었다.¹⁵⁾

⑤ Linoleic acid 과산화저해

25 mg/mL 농도의 시료 30 μ l, linoleic acid 400 μ l, phosphate buffer 800 μ l, 증류수 770 μ l를 가해 반응 혼합물을 만들어 40°C에서 자동산화를 유발하였다. 이 반응액 0.1mL을 24시간 후 취해 0.1mL의 30% NH₄SCN 및 75% 에탄올 2.7mL와 혼합한 액에 2.45mg/mL 농도의 ferrous chloride 0.1mL을 가해 혼합하고 3분 후 500nm에서 흡광도 측정하여 용매를 사용한 대조군의 흡광도에 대한 저해율(%)로서 항산화 효과를 나타내었다.¹⁶⁾

(2) *in vivo* 실험

① 식이조성

Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 식이군 별로 9마리씩 1주일간 예비 사육한 후 정상군(Normal), 에탄올 단독 투여한 대조군(Control), 에탄올 및 유근피 에탄올 추출물 0.2% 투여군, 에탄올 및 유근피 에탄올 추출물 0.5% 투여군으로 나누어 2주간 분사육을 행하였으며, 분사육 2주일 동안 물병을 통해 10% 에탄올을 공급함으로써 산화적 스트레스를 유발하였다. 식이와 물은 자유롭게 섭취도록 하였고 그 섭취량을 기록하였으며 1주일 간격으로 각 동물

들의 체중 변화를 기록하였고 사육 환경은 온도 22 ± 2℃, 습도 55%, 명암 주기 12시간으로 유지하였다. 식이조성은 Table I 과 같이 조성되었으며, 무기질 및 비타민 혼합물은 Table II 및 III과 같이 조제되었다.

Table I. Diet Composition and Alcohol Administration

| Contents | | Normal Control | | Sample | |
|-------------------------------------|----------------------------------|----------------|-------|--------|-------|
| | | | | 0.2% | 0.5% |
| Ingredients (%) for Diet | Corn starch | 39.75 | 39.75 | 39.75 | 39.75 |
| | Casein | 20.00 | 20.00 | 20.00 | 20.00 |
| | Dextrin | 13.20 | 13.20 | 13.20 | 13.20 |
| | Sucrose | 10.00 | 10.00 | 10.00 | 10.00 |
| | Olive oil | 7.00 | 7.00 | 7.00 | 7.00 |
| | Fiber | 5.00 | 5.00 | 4.80 | 4.50 |
| | AIN-mineral mixture [†] | 3.50 | 3.50 | 3.50 | 3.50 |
| | AIN-vitamin mixture [‡] | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | L-cystine | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| | Choline bitartrate | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| | Extract [#] | 0 | 0 | 0.20 | 0.50 |
| | (Total) | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| Alcohol administration [*] | | No | Yes | Yes | Yes |

Normal : Untreated group

Control : 10% ethanol treated for 2 weeks

AIN-mineral mixture[†] : see Table II

AIN-vitamin mixture[‡] : see Table III

Extract[#] : Ethanol-extract of Ulmi Radicis Cortex

Alcohol administration^{*} : Treated with 10% ethanol for 2 weeks

Table II. Composition of Mineral Mixture

| Component | Weight (g) |
|-------------------------------|------------|
| Calcium carbonate | 357.00 |
| Potassium phosphate monobasic | 196.00 |
| Potassium citrate | 70.78 |
| Sodium chloride | 74.00 |
| Potassium sulfate | 46.60 |
| Magnesium oxide | 24.00 |
| Ferric citrate | 6.06 |
| Zinc carbonate | 1.65 |
| Manganese carbonate | 0.63 |
| Cupric carbonate | 0.30 |
| Sodium meta-silicate | 1.45 |
| Chromonic potassium sulfate | 0.2750 |
| Lithium chloride | 0.1740 |
| Sodium fluoride | 0.0635 |
| Boric acid | 0.0815 |
| Nickel carbonate | 0.0318 |
| Ammonium vanadate | 0.0066 |
| Sodium selenate anhydrous | 0.01025 |
| Ammonium paramolybdate | 0.00795 |
| Potassium iodate | 0.0100 |
| Sucrose | 221.0260 |
| Total | 1000.0000 |

Table III. Composition of Vitamin Mixture

| Component | Weight (g) |
|-----------------------|------------|
| Thiamin-HCl | 0.600 |
| Riboflavin | 0.600 |
| Pyridoxine-HCl | 0.700 |
| Nicotinic acid | 3.900 |
| Calcium panthothenate | 1.600 |
| Folic acid | 0.200 |
| Phylloquinone | 0.075 |
| D-biotin | 0.0200 |
| Cyanocobalamin | 0.0025 |
| Cellulose | 2.4975 |
| Retinyl palmitate | 0.8000 |
| Tocopheryl acetate | 15.0000 |
| Cholecalciferol | 0.2500 |
| Sucrose | 974.6550 |
| Total | 1000.0000 |

② 장기 적출 및 효소액 조제

간장 및 신장은 0.9%의 식염수로 관류한 후 적출하여 세척하고 여과지로 닦은 다음 중량을 기록하였고 -70℃의 냉동고에 보관하면서 조직 균질액 및 효소액 조제에 사용하였다(Scheme 1).

③ 간장 중 TBARS 함량 측정

Liver homogenate 2mL, 10% aqueous TCA 2mL, 0.8% BHT 함유 hexane 2mL을 혼합한 후 600×g에서 10분간 원심분리하고 상층을 제거하였다. 상등액 중 2mL을 취해 5% TCA 2mL 가한 후 원심분리하여 얻어진 상등액 0.5mL을 5% TCA 0.5mL, 0.8% TBA 1mL와 혼합하고 끓는 물에서 15분간 반응시킨 후 급냉하였다. 이 반응액의 흡광도를 521.5nm에서 측정하였으며 표준물질도 동일하게 처리하여 흡광도 측정하고 시료의 MDA 함량을 TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane)로부터 조제된 MDA (malondialdehyde)에 의해 작성된 검량선 식에 근거하여 산출하였다.¹⁷⁾

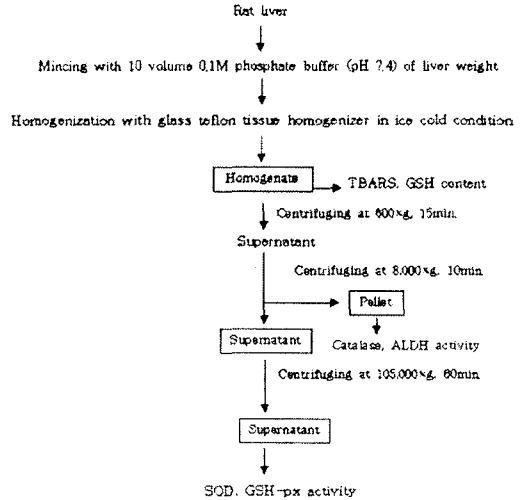
④ GSH 함량 측정

간장의 과산화물질 정량에 사용된 전처리과정과 동일한 과정에 의해 제단백하고 얻어진 최종 상등액에 disulfide reagent (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid 39.636mg을 0.1M sodium phosphate buffer (pH 8.0) 1L에 녹여 제조) 2.7mL을 가하여 청색 화합물을 얻었으며 이 청색 화합물을 421nm에서 측정된 값을 glutathione standard를 사용한 검량선에 대입하여 산출하고 조직 1g당 glutathione (μg)으로 나타내었다.¹⁸⁾

⑤ 간장 중 SOD 활성 측정

75mM Sodium xanthine 50μL와 10mM hydroxylamine hydrochloride 50μL, 원심분리한 조직 상등액 500μL 그리고 증류수 200μL를 혼합한 후 37℃에서 10분간 예비 배양하였다. 여기에 xanthine oxidase (0.1U/mL) 200μL를 가하고 다시 37℃에서 20분간 배양한 다음 1% sulfanilamide 1mL, 0.02% N-(1-naphthyl)ethylenediamine 1mL를 가한 후 실온에서 20분간 방치한 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 SOD standard에 대하여 동일한 과

정을 행한 후 검량선을 얻었으며 이 검량선으로부터 총 SOD값을 구한 후 이 값에서 Mn-SOD의 값을 뺀 것을 Cu, Zn-SOD로 하였다. 또한 Mn-SOD 활성은 반응액 중에서 증류수 대신에 4mM KCN을 가하는 것만을 달리하여 Cu, Zn-SOD와 같은 실험 과정에 의해 분석하였고 얻어진 흡광도를 SOD standard 검량선에 대입하여 활성(U/mg protein)을 나타내었다.¹⁹⁾



Scheme 1. Preparation of tissue homogenate and enzyme solution from rat liver.

⑥ 간장 중 catalase 활성 측정

0.1mL의 원심분리한 상등액, 기질인 10.5mM H₂O₂ 그리고 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)를 합하여 3mL이 되게 한 후 25℃에서 30초 동안 반응시켰으며 이 반응액을 240nm에서 H₂O₂의 흡광도 변화로 효소 활성을 측정하였고 효소 활성 (k/mg protein)은 1분간 1μM H₂O₂를 분해시키는데 요구되는 효소량으로 나타내었다.²⁰⁾

⑦ 간장 중 GSH-px 활성 측정

1×10⁻³M Sodium azide와 1 mM EDTA를 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0) 500μL, 효소액 100μL, glutathione reductase (2.768 U/mL) 100μL, 1×10⁻³M glutathione 100μL을 혼합, 37℃에서 10분 동안 예비 배양한 후 이 반응액에 0.1% NaHCO₃에 녹인 1.5×10⁻³M NADPH 100μL를

가해 1분간 그리고 1.5×10^{-3} M H_2O_2 100 μ l을 가한 후 다시 1분간 340nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 흡광도와 NADPH의 molecular extinction coefficient ($E=6.22 \times 10^6 \text{cm}^2$)로부터 효소액과 blank의 1분간의 NADPH 농도의 변화 ($\Delta[\text{NADPH}]/\text{min.}$)를 산출하고 이 효소액의 수치에서 blank의 수치와 glutathione peroxidase와 관련없는 인자에 의해 나타나는 $\Delta[\text{NADPH}]/\text{min.}$ 를 빼준 값을 다음의 식에 대입하여 glutathione peroxidase의 활성 (U/mg protein)을 산출하였다.²¹⁾

$$U = 0.868(\Delta[\text{NADPH}]/[\text{GSH}_0] \times t) \times (V_i/V_s)$$

V_i/V_s : 희석배수,
 V_i : incubation volume,
 V_s : initial sample volume,
 GSH_0 : glutathione의 초기 농도

⑧ 간장 중 ALDH 활성 측정²²⁾

Liver mitochondria 분획에 일정량의 50mM phosphate buffer (pH 7.0)를 가하여 혼합한 후 0.1mL을 취해 buffer 0.9mL로 희석한 후 반응액 1mM NAD, 0.2mM 4-methyl pyrazole, 1mM magnesium chloride가 함유된 50mM sodium pyrophosphate (pH 8.8) 1mL, 0.2% rotenone 0.5mL 및 400 μ g protein에 해당하는 효소액을 가해 혼합하였다. 이 반응액을 30 $^\circ$ C water bath에서 20분간 incubation한 후 340nm에서 1분간 흡광도 측정하고 5mM acetaldehyde 0.1mL을 가하여 반응을 시작한 후 340nm에서 1분간 흡광도를 측정하였다. 결과는 340nm에서 흡광계수인 $6200\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 에 근거하여 분당 생성된 NADH (nM NADH/min/mg protein)의 nanomole로 표기하였다.

3) 통계분석

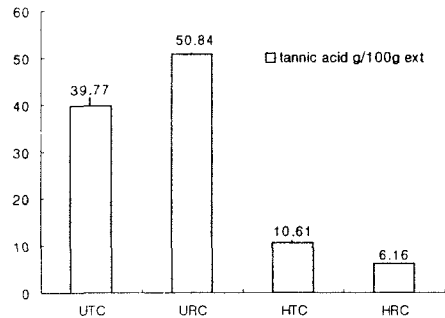
in vivo 실험에서 대조군과 시료에 대해 행한 실험의 결과는 Mean \pm SD로 나타내었고 각 군의 유의성은 $P < 0.05$ 의 수준에서 one way ANOVA test 후 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결 과

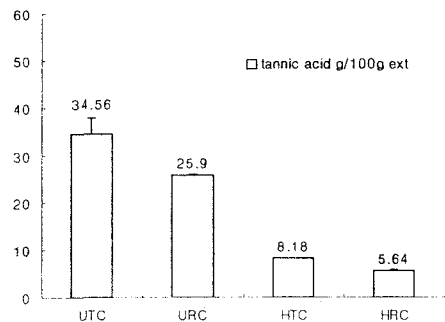
1. *in vitro* 활성

1) 총 페놀 함량

총 페놀 함량 측정은 각 용매 추출물의 항산화 효과와 관련성을 찾기 위해 측정하였다. 유수피와 유근피 및 자유수피와 자유근피 모두 물 추출물 보다 에탄올 추출물에서 총 페놀 함량이 높았고 유근피가 유수피보다 총 페놀 함량이 높았으며, 자유근피보다 자유수피가 총 페놀 함량이 높게 나왔다. 각 추출물 중에서 유근피가 가장 높은 총 페놀 함량을 나타냈다. 페놀 화합물은 항산화 효과를 가지는 것으로 보고되고 있어 유근피 에탄올 추출물은 다른 추출물보다 높은 항산화력을 가질 것으로 기대된다 (Fig. 1).



Ethanolic ext.



Water ext.

Fig. 1. Total phenolic content of ethanolic and water extracts of Ulmi Cortex and Hemiptelea Cortex

2) Superoxide 소거 효과

Superoxide (O₂⁻)의 산화 억제 작용을 알아보기 위하여 superoxide와 반응하여 자동산화 반응을 측정된 결과, 유수피와 유근피 및 자유수피와 자유근피의 각 농도별 첨가에 따른 소거능을 보면 200ppm에서는 수피와 근피의 물 추출물이 에탄올 추출물보다 높았으며 그 중 유수피의 물 추출물이 가장 높았다. 100ppm에서는 수피와 근피의 물 추출물이 에탄올 추출물보다 높았으며 그 중 자유수피가 가장 높았다. 50ppm에서는 수피와 근피의 물 추출물이 에탄올 추출물보다 높았으며 그 중 유수피가 가장 높았다. 10ppm에서는 수피와 근피의 물 추출물이 에탄올 추출물보다 높았으며 그 중 유근피가 가장 높았다. 5ppm에서는 수피와 근피의 물 추출물 에탄올 추출물보다 높았으며 그 중 유근피가 가장 높았다. 이러한 결과로부터 자유피보다는 유근피 및 유수피가 우수한 superoxide 소거능을 나타내는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

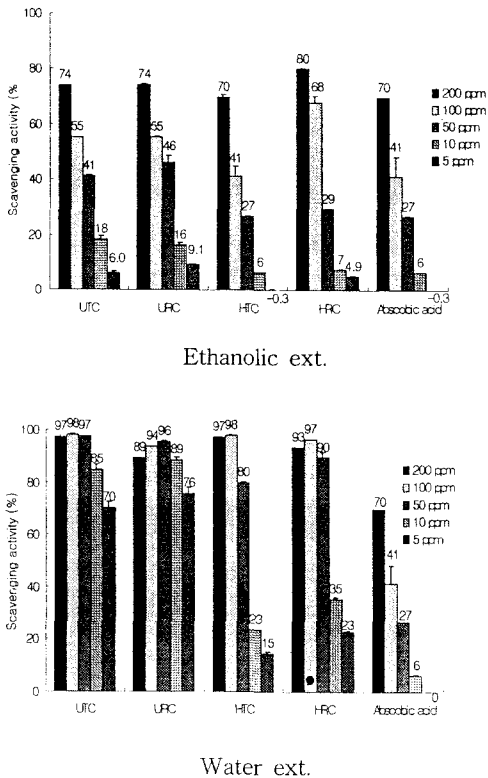


Fig. 2. Scavenging activity on superoxide anion radical of ethanolic and water extracts from Ulmi Cortex and Hemipteleae Cortex

UTC ; Ulmi Trunci Cortex

URC ; Ulmi Radicis Cortex

HTC ; Hemipteleae Trunci Cortex

HRC ; Hemipteleae Radicis Cortex

3) DPPH 소거효과

유수피와 유근피 및 자유수피와 자유근피의 각 농도별 첨가에 따른 DPPH 라디칼 소거능을 보면 모든 시료에서 에탄올 추출물이 물 추출물보다 우수하였으며 실험된 모든 농도에서 유근피가 가장 우수한 소거능을 나타내었다(Fig. 3).

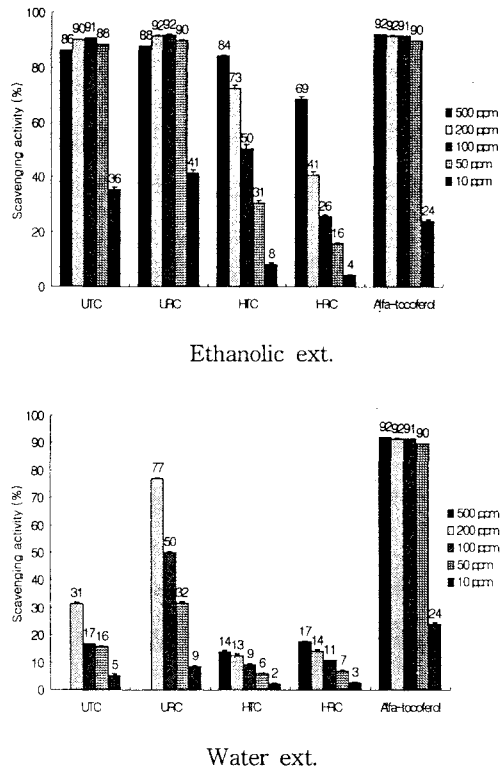


Fig. 3. Scavenging activity on DPPH radical of ethanolic and water extracts from Ulmi Cortex and Hemipteleae Cortex

4) LDL 산화저해 효과

유수피와 유근피 및 자유수피와 자유근피의 각 농도별 첨가에 따른 사람의 저밀도지단백 (LDL)에 대한 산화저해 활성효과는 200ppm에서 수피와 근피의 에탄올 추출물이 근피와 수피의 물 추출물과

비슷한 수치를 나타냈으며 그 중 자유수피의 에탄올 추출물이 가장 높았다. 100ppm에서는 수피와 근피의 에탄올 추출물이 물 추출물과 비슷한 수치를 나타냈으며 그 중 유수피의 에탄올 추출물이 가장 높았다. 50ppm에서는 수피와 근피의 에탄올 추출물이 물 추출물과 비슷한 수치를 나타냈으며 그 중 유수피의 에탄올 추출물이 가장 높았다. 10ppm에서도 동일한 결과를 나타내었다. 특히, 유수피와 유근피의 에탄올 추출물은 낮은 농도에서도 천연 항산화제인 α -토코페롤보다 월등히 높은 항산화 활성을 나타내었다(Fig. 4).

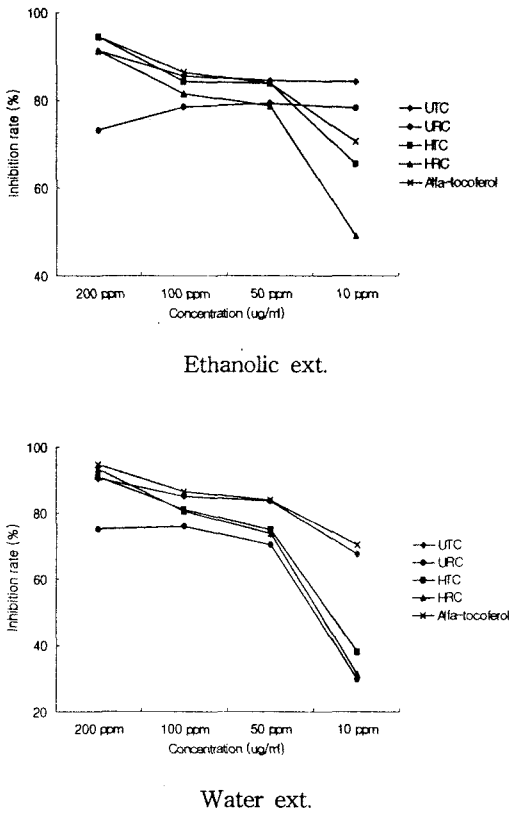


Fig. 4. Inhibitory activity on LDL oxidation of ethanolic and water extracts from Ulmi Cortex and Hemipteleae Cortex

5) Linoleic acid 과산화 저해 효과

유피 및 자유피 추출물의 linoleic acid의 과산화에 대한 저해 효과를 보면, 유수피와 유근피 및 자유수피와 자유근피에서 조제된 에탄올 추출물은

100ppm에서 12.5ppm까지의 모든 농도에서 물 추출물보다 높았으며 그 중 유수피가 가장 높았다(Fig. 5). 결과적으로 시판 항산화제인 α -토코페롤보다는 낮으나 유수피를 비롯한 유근피, 자유수피와 자유근피는 매우 우수한 과산화저해능을 보유하고 있다.

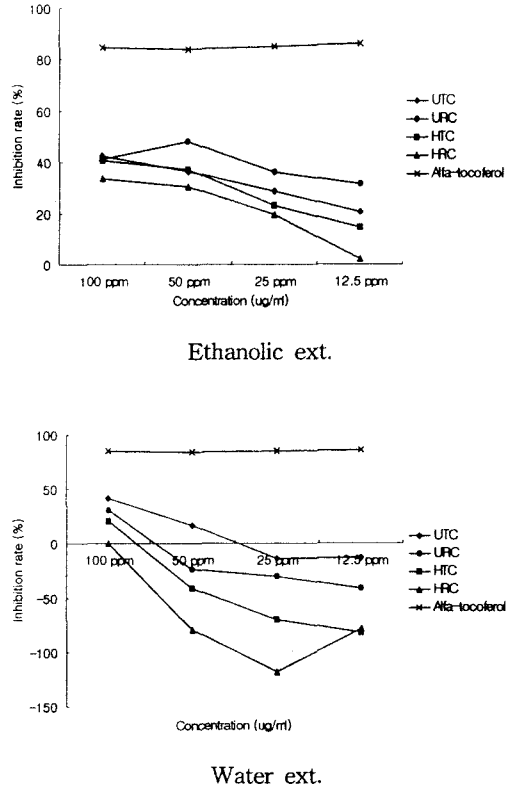


Fig. 5. Inhibitory activity on linoleic acid peroxidation of ethanolic and water extracts from Ulmi Cortex and Hemipteleae Cortex

2. in vivo 활성

1) 간장 중 TBARS 함량

에탄올 투여로 인한 산화적 스트레스에 의해 유발되는 과산화물질의 생성에 미치는 유근피 추출물에서의 저해 효과는 에탄올 무투여군의 과산화물질 생성이 에탄올 투여군들보다 낮았으며, 에탄올 투여군들 중에는 유근피 추출물군들보다 추출물을 첨가하지 않은 에탄올 대조군보다 좀 더 높은 함량을 나타내었다(Fig. 6).

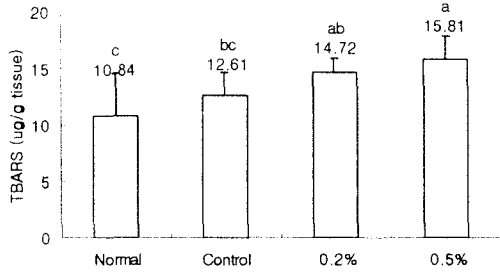


Fig. 6. Inhibitory activity on TBARS production in rat liver of ethanolic extracts from Ulmi Radicis Cortex (Normal ; alcohol untreated control group, Control ; alcohol-treated control group)

2) GSH 함량

에탄올 투여로 감소하는 항산화물질의 함량 변화를 보면, GSH는 에탄올 무투여군에서 가장 높았으며 에탄올을 투여한 실험군 중에서는 0.5% 유근피 추출물군에서 에탄올 단독투여군보다 좀 더 높은 함량을 보였다(Fig. 7).

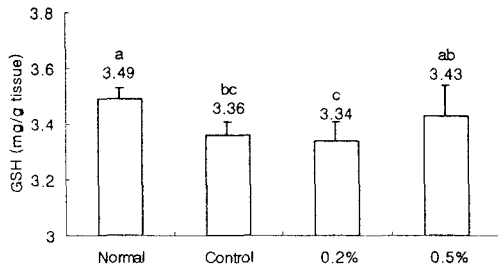


Fig. 7. Effect of ethanolic extracts from Ulmi Radicis Cortex on glutathione content of ethanol-treated rat liver (Normal ; ethanol untreated control group, Control ; ethanol-treated control group)

3) 간장 중 SOD 활성

본 실험에서는 에탄올을 투여한 3군 모두가 total SOD, Mn-SOD가 무에탄올 투여군에 비해 그 활성이 증가하였으며 두 효소 활성 모두 0.2% 유근피

추출물 투여군이 에탄올 단독 투여군이나 0.5% 추출물 투여군 보다 낮은 활성을 나타내었다. Cu, Zn-SOD의 경우는 에탄올 무투여군 및 유근피 추출물 투여군이 에탄올 단독투여군보다 낮은 활성을 나타내 활성이 증가된 total SOD의 대부분이 Mn-SOD임을 나타내주고 있다(Fig. 8).

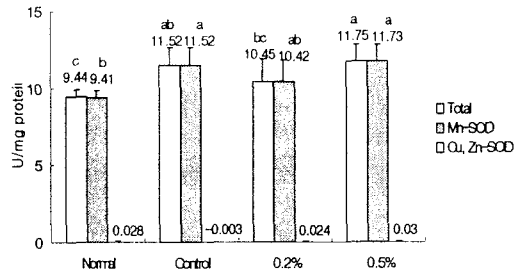


Fig. 8. Effect of ethanolic extracts from Ulmi Radicis Cortex on SOD activity in ethanol-treated rat liver (Normal ; ethanol untreated control group, Control ; ethanol-treated control group)

4) 간장 중 catalase 활성

에탄올의 투여에 의해 증가할 것으로 기대되는 catalase 활성은 유근피 추출물 투여군이 에탄올 무투여군 및 에탄올 단독투여군보다 높았다(Fig. 9).

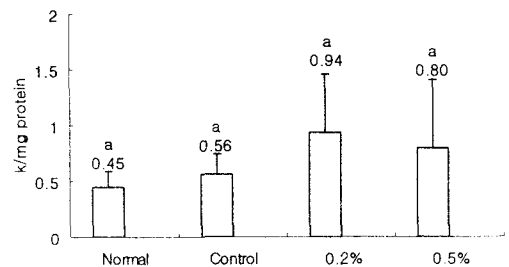


Fig. 9. Effect of ethanolic extracts from Ulmi Radicis Cortex on catalase activity in ethanol-treated rat liver (Normal ; ethanol untreated control group, Control ; ethanol-treated control group)

5) GSH-px 활성

에탄올 투여로 증가할 것으로 예상되는 또 다른 항산화 효소인 GSH-px는 유의적이지는 않지만 유근피 추출물 투여군이 에탄올 무투여군 및 에탄올 단독투여군보다 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 10).

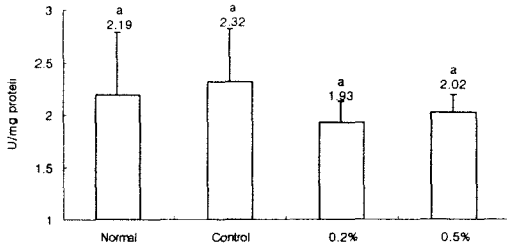


Fig. 10. Effect of ethanolic extracts from Ulmi Radicis Cortex on GSH-px activity in ethanol-treated rat liver (Normal ; ethanol untreated control group, Control ; ethanol-treated control group)

6) 간장 중 ALDH 활성

에탄올의 분해에 의해 생성되는 acetaldehyde를 기질로 하여 분해함으로써 acetaldehyde의 독성을 감소시키는 효소인 ALDH에 대한 유근피 에탄올 추출물의 효과를 확인한 결과, 에탄올 투여군이 다른 실험군들에 비해 활성이 가장 높았다. 에탄올 무투여군보다는 0.2% 유근피 추출물 투여군이 좀 더 높은 활성을 보였다(Fig. 11).

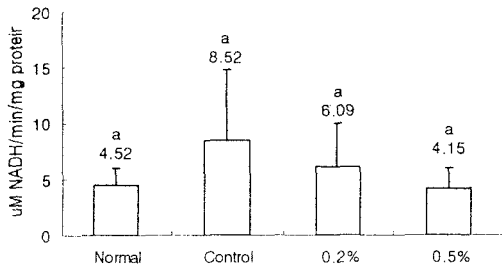


Fig. 11. Effect of ethanolic extracts from Ulmi Radicis Cortex on ALDH activity in ethanol-treated rat liver (Normal ; ethanol untreated control group, Control ; ethanol-treated control group)

고찰

榆皮는 《神農本草經》¹⁾上品에 “味甘, 平, 主大小便不利 利水道 除邪氣, 久服輕身不飢, 其實尤良, 一名零榆” 수재된 이후 《名醫別錄》¹¹⁾에서는 “腸胃邪熱氣 消腫 性滑利, 療小兒頭瘡痂疔 花主小兒爛 小便不利 傷熱, 生穎川山谷, 二月菜皮 取白暴乾, 八月菜實 并勿令中濕 中濕傷人”이라 하였으며, 《大觀本草》¹²⁾에서는 通經脈한다 하였고, 《本草綱目》⁷⁾에서는 “榆皮, 榆葉 性滑利下降, 故人小便不通 五淋腫滿 喘嗽不眠 經脈胎產諸證宜之, 本草<十劑>云 滑可祛著 冬葵子, 榆白皮之屬 蓋亦取其利竅 滲濕熱 消留著有形之物也”라 하여 榆皮의 滑利下降하는 성질이 利竅 滲濕熱 行津液 消癰腫 등의 효능을 나타내게 하는 근거로 삼았으며, 《本草求真》¹⁰⁾에는 胃, 大腸, 小腸에 入하며, 利水, 通淋, 消腫하여 小便不通, 水腫, 癰疽發背, 丹毒, 疥癬을 치료한다 하였다. 이처럼 榆皮는 利水, 通淋, 祛痰, 消腫解毒의 효능이 있어 水腫, 小便不利, 淋濁, 帶下, 咳嗽痰多, 失眠, 內外出血, 難産死胎不下, 癰疽, 瘰癧, 禿瘡, 疥癬 등을 치료하는데 사용되고 있다.^{7, 23-24)}

刺榆皮는 《本草綱目》⁷⁾에서 “《陳藏器》曰, 江東에는 大榆가 없고, 刺榆가 있다. 가을에 열매를 맺는다. 刺榆는 皮가 滑利하지 않다.”라고 수재된 바와 같이 陳藏器의 《本草拾遺》에서 榆와 刺榆가 구별되었으며, 刺榆皮는 解毒消腫의 효능이 있어 瘡癰腫毒과 毒蛇咬傷 등을 치료한다.⁶⁾

이와같이 榆皮의 기원식물로 榆와 刺榆가 있으며, 또 榆와 刺榆는 약용부위도 수피와 근피가 함께 쓰이고 있기 때문에 榆皮와 刺榆皮의 효능을 비교할 필요가 있다.

산소를 이용하여 생명을 유지하고 있는 생물에서는 산소가 전자전달계의 말단에서 전자의 주고받음에 관여함으로써 산소는 1전자 환원된 O₂⁻ (superoxide)를 생성하며 계속 환원되어 H₂O를 생성하게 된다. 이 과정 중에 생성된 활성산소는 DNA의 ribose-인산 결합의 개열과 염기의 산화적 저해를 일으키고, 기능성 단백질의 산화를 일으켜 불활성화 시키며 세포막에서 불포화 지방의 과산화와 막의 파괴를 일으키는 생체의 산화적 장애를 초래하게 되므로 생체 내에서는 SOD가 O₂ 소거에 관여한다. 한편, 이의 일종으로 SOD와 작용 기작은 다르지만 인체 내에서의 활성산소를 소거하는 역할이 유사하여 통상적으로 SOD 유사활성물질이라 부르며, 최근 SOD 유사활성을 지닌 천연물 소재를 개

발하는데 많은 연구가 이루어지고 있다. 이에 superoxide (O₂⁻)의 산화 억제 작용을 알아보기 위하여 superoxide와 반응하여 자동산화 반응을 측정 한 결과 superoxide 소거능에서는 유수피 물 추출물이 각각의 농도에서 고루 높았고 10ppm에서만 유근피 물 추출물이 높았다. DPPH 소거능에서는 유근피 에탄올 추출물이 모든 농도에서 고루 높게 나왔고 LDL 산화저해능에서는 유수피 에탄올 추출물이 대부분의 농도에서 높게 나왔으며 200ppm에서만 자유수피 에탄올 추출물이 높게 나타났다. 특히, 유수피와 유근피의 에탄올 추출물은 낮은 농도에서도 천연 항산화제인 α-토코페롤보다 월등히 높은 항산화 활성을 나타내었다. 또한, 과산화저해능은 100ppm에서만 유수피 에탄올 추출물이 높게 나타났을 뿐 대부분의 농도에서 유근피 에탄올 추출물이 높은 결과를 나타내었다. 시판 항산화제인 α-토코페롤보다는 낮으나 유수피를 비롯한 유근피, 자유수피와 자유근피는 매우 우수한 과산화저해능을 보유하므로 산화되기 쉬운 불포화 지방산을 함유한 세포막과 같은 system에서 효과적인 항산화제로서 작용할 것으로 기대된다. 따라서 유피 및 자유유피는 수피와 근피 모두 *in vitro* 항산화 효과를 나타내는 것이 확인되었으며 그 중 에탄올 추출물들이 더 효과적이었다.

한편, *in vivo* 항산화 실험결과에 의하면 에탄올과 병행 투여된 유근피 에탄올 추출물은 흰쥐의 간장에서 과산화물질 생성을 효과적으로 저해하지 못하였으나 항산화 물질인 GSH의 감소를 막아주었으며 에탄올투여에 의해 산화적 스트레스가 유발되는 경우에 증가하는 Mn-SOD, GSH-px 등의 항산화 효소의 활성을 회복시켜주는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 에탄올 섭취로 증가하는 상대 간장중량의 감소가 0.5% 유근피 추출물 투여군에서 확인되어 이 또한 유근피의 항산화능을 나타내는 결과로 사료되었으나 에탄올분해 효소의 하나인 ALDH 활성은 그다지 높지 않음을 관찰할 수 있었다. 이러한 실험결과를 살펴볼 때 유근피 추출물은 체중감소 및 과산화물질 생성 저해 효과는 낮았으나 에탄올 섭취에 의해 유도되는 Mn-SOD 및 GSH-px의 활성 증가를 감소시키고 그 결과, 항산화물질인 glutathione의 함량을 유지할 수 있었던 것으로 추측되므로 에탄올에 의한 산화적 손상을 어느 정도 막아내는 것으로 판단되었다.

이상과 같은 실험 결과를 종합할 때 유피와 자유유피의 추출물은 추출조건에 따라 다소 차이는 있으나 자유피보다 유피의 항산화 효과가 우수하였고 유수피보다 유근피가 모든 시험에서 효능이 높았다.

결론

榆皮 (느릅나무, *Ulmus davidiana* Planchon var. *japonica* Nakai)와 刺榆皮 (시무나무, *Hemiptelea davidii* (Hance) Planchon)의 樹皮, 根皮의 항산화 효과를 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Superoxide 소거능은 모든 시료 공히 에탄올 추출물보다는 물 추출물이 높았으며 낮은 농도인 50ppm 에서도 90% 이상으로 높았으나 시료간의 차이는 크지 않았다. DPPH 소거능은 에탄올 추출물이 물 추출물보다 현저히 높았으며 榆根皮, 榆樹皮는 α-토코페롤과 비슷한 수준의 효과를 보였다.
2. LDL 산화저해 효능은 에탄올 추출물과 물 추출물 간 차이는 없었으며 榆根皮, 榆樹皮는 10ppm 의 저농도에서도 높은 효과를 보였다. Linoleic acid 과산화 저해효과는 모든 시료에서 높지 않았다.
3. 榆根皮 에탄올 추출물은 흰쥐의 간장에서 GSH의 감소를 막아주었으며 Mn-SOD, GSH-px 등의 항산화 효소의 활성을 정상 수준으로 회복시켰다.

이상의 시험 결과를 종합해 보면 刺榆皮보다 榆皮의 효능이 우수하였고 榆樹皮보다는 榆根皮가 모든 시험에서 효능이 높았다.

참고문헌

1. 孫星衍 輯. 神農本草經. 北京:科學技術文獻出版社. 1999:38.
2. 江蘇新醫學院. 中藥大辭典. 香港:商務印書館印行. 1979:1264-5,2438-9.
3. 한국의약품시험연구소. 한약(생약)규격집. 서울:대명기획. 2000:367.
4. 조선인민주의인민공화국 약전위원회. 조선민주주의인민공화국약전. 평양:의학과학출판사. 1996:134.
5. 行政院 衛生署 編. 中華民國中藥典範. 台地:輯印刷有限公司. 1985:278-9.
6. 國家中醫藥管理局. 中華本草. 上海:上海科學技術出版社. 1999:2:445,453-5.

7. 李時珍. 本草綱目. 北京:人民衛生出版社. 1982: 2040-1.
8. 甘僞松. 藥用植物學. 國立中國醫藥研究所 臺中. 1981:173-5.
9. 엄용대, 전길환, 신민교, 송호준. 한국산 楡(느릅나무)과 식물에 관한 본초학적 연구. 대한본초학회지. 1997;12(1):113-33.
10. 黃宮灑. 本草求真. 서울:醫聖堂. 1997:35-6.
11. 尙志鈞 輯校. 名醫別錄. 北京:人民衛生出版. 1986: 65.
12. Kim NM, Sung HS, Kim WJ. Effect of solvents and some extraction conditions on antioxidant activity in cinnamon extracts. Korean J Food Sci Technol. 1993;25:204-9.
13. Nishikimi N, Rao NA, Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygenin. Biochem Biophys Res Commun. 1972;46:849.
14. Lee SE, Seong NS, Park CG, Seong JS. Screening for antioxidative activity of oriental medicinal plant materials. Korean J Medicinal Crop Sci. 2002;10:171-6.
15. Yang KS, Sim JM. Effect of *Arctii fructus* on low density lipoprotein oxidation. Kor J Pharmacogn. 1997;28:275-9.
16. Haraguchi H, Hashimoto K, Yagi A. Antioxidative substances in leaves of *Polygonum hydropiper*. J Agric Food Chem. 1992;40:1349-51.
17. Botsoglou NA, Fletouris DJ, Parageorgiou GE, Vassilopoulos VN, Mantis AJ, Trakatellis AG. Rapid, sensitive and specific thiobarbituric acid methods for measuring lipid peroxidation in animal tissues, food and foodstuffs. J Agric Food Chem. 1994;42:1931.
18. Ellaman GL. Tissue sulfhydryl group. Arch Biochem Biophys. 1950;82:79.
19. Flohe' L, Ötting F. Superoxide dismutase assays, In "Methods in enzymology(vol. 105)". L Packer(ed) Academic Press. 1984:93-105.
20. Abei H. Catalase *in vitro*, In "Methods in enzymology(vol. 5)". L Packer(ed) Academic Press. 1984:121-6.
21. Flohe' L. Determination of glutathione peroxidase. In Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine, Miguel J. 1989; 3:283-4.
22. Kathryn G, Zalman A, Brian RS. The regulation of alcohol consumption in rats: the role of alcohol-metabolizing enzymes-catalase and aldehyde dehydrogenase. Alcohol. 1996; 13:347-53.
23. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:麗江出版社. 1994:197, 476, 555, 2217, 2350.
24. 안덕균. 원색한국본초도감. 서울:교학사. 1998: 404.