

## 유근피 추출물 및 분획의 생리활성

양선아<sup>1,2\*</sup> · 김아영<sup>2,3</sup> · 표병식<sup>3</sup> · 김선민<sup>3</sup>

<sup>1</sup>조선대학교 의과학과, <sup>2</sup>동신대학교 바이오센터, <sup>3</sup>동신대학교 한약재산업학과

### Physiological Activity of Extracts of Bark from *Ulmus davidiana* var. *japonica* and its fractions

Sun a Yang<sup>1,2</sup>, A young Kim<sup>2,3</sup>, Byoung sik Pyo<sup>3</sup> and Sun min Kim<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biomedical Sciences, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

<sup>2</sup>Bio Center, Dongshin University, Naju 520-811, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Oriental Medicine Materials, Dongshin University, Naju 520-811, Korea

**Abstract** – In this study, extracts of bark from *Ulmus davidiana* var. *japonica* and its fractions were investigated the anti-oxidative, antibacterial and tyrosinase inhibition activity for physiological activity towards functional applications. In the measurement of DPPH radical scavenging activity, the ethyl acetate fraction showed higher radical scavenging ability than others. Moreover, in the tyrosinase inhibition assay, showed that the ethyl acetate fraction has good inhibition effects. Results of the DPPH radical scavenging and tyrosinase inhibition activity are related with the total polyphenol concentrations of ethyl acetate fraction. In antibacterial activity used to find out by utilizing the disc diffusion assay, chloroform fraction showed strong effect against *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*. These results are related with the flavonoid contents of chloroform fraction. On the other hand, in the L929 cell viability measurement by MTT assay, the hexane, butanol and aqueous fraction treated at high concentration were showed cytotoxicity. But the others samples were exhibited a moderate viabilities. As a result of investigated the antioxidant and tyrosinase inhibition activity, the ethyl acetate fraction could be applicable for cosmetics related fields. And the chloroform fraction showed significant antibacterial activity against *S. aureus* and *S. epidermidis*.

**Keywords** – *Ulmus davidiana*, Antibacterial activity, Antioxidant activity, Tyrosinase inhibition activity

느릅나무과(Ulmaceae)에 속하는 낙엽성 활엽교목인 느릅나무(*Ulmus davidiana* var. *japonica*)는 30m에 달하는 큰 나무로서 꽃은 황록색의 작은 꽃이 4~5월에 가지의 상단에서 피며, 과실은 5~6월에 성숙한다. 지리적으로 만주, 일본, 중국 등 동아시아에 널리 분포하며 우리나라의 전국에서 자생한다. 느릅나무의 수피는 유백피(榆白皮) 또는 유피(榆皮)라고도 불리며 뿌리의 껍질을 건조한 것을 유근피(榆根皮)라고 한다. 오래 전부터 민간에서는 느릅나무의 열매, 껍질, 뿌리를 이용하여 고약으로 만들어 소염제로 염증 및 종창 환부에 도포하여 사용하였고, 증탕을 하여 소화기 궤양 및 종양에도 이용하였다. 또한 느릅나무의 열매와 꽃을 발효하여 국수, 떡과 같은 음식으로 이용하거나 기생충을 죽이는 음식으로도 사용하였다는 역사적 기록이 있다. 뿐 아니라

한방에서는 유근피, 유백피가 다량의 tannin과 점액질을 함유하고 있어 소종독(消腫毒), 치습, 이뇨, 완화제, 기생구충제 등 많은 증상에 활용해 왔다.<sup>1,2)</sup> 현재까지 밝혀진 주요 활성 성분으로는 소염작용을 하는 triterpenoid계 물질인 friedelin, epifriedelanol 및 taraxerol, 점액질의 주성분인 pectic 다당류, sitosterol, stigmasterol, tannin, resin 등이 알려져 있으며,<sup>3-5)</sup> 최근까지 연구된 유근피의 활성으로는 항산화, 항균, 항염증, 항암 효과를 비롯하여 지질대사 개선 등 많은 분야에서 연구가 이루어지고 있다.<sup>6-10)</sup> 하지만 추출물 수준에서의 연구는 많이 이루어졌지만 분획물 수준의 연구는 미비한 실정이다. 따라서 유근피 추출물과 분획물의 항산화활성, 항균활성, tyrosinase 저해활성 등을 비교 조사하여 유근피를 이용한 기능성 소재 개발의 가능성을 살펴보고자 한다.

\*교신저자(E-mail): sa861126@gmail.com  
(Tel): +82-10-7494-2725

## 재료 및 방법

**식물재료** - 본 실험에 사용된 유근피는 전남생약농업협동조합에서 구입한 후 동신대학교 한의과대학 한약재산업학과 표병식 교수에게 의뢰하여 동정한 후 4°C 이하로 냉장 보관하면서 실험에 사용하였으며, 표품(DSUBIO-2018-004)은 동신대학교 바이오센터에 보관되어 있다.

**사용 균주와 세포주 및 배지** - 항균활성 실험에 사용된 미생물 균주인 *Staphylococcus epidermidis*(KCTC1917), *Staphylococcus aureus*(KCTC3881)는 한국생명공학연구원 생물자원센터(BRC)에서 분양 받은 것을 실험에 사용하였다. *S. epidermidis*와 *S. aureus* 균주는 Nutrient agar 및 broth를 사용하였다. 세포독성 실험에 사용된 동물세포주인 L929 cell은 BRC에서 분양 받은 것을 실험에 사용하였으며, DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)배지에 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin을 혼합한 배지를 사용하였다.

**추출 및 분획** - 건조된 유근피 시료를 blender를 사용하여 마쇄한 후 methanol(MeOH)을 추출 용매로 하여 60°C에서 2시간씩 3회 반복하여 환류추출을 실시하였다. 추출액은 여과와 농축 및 동결건조를 실시하여 분말화하였고 이중 일부를 증류수에 분산시킨 후 hexane, chloroform(CHCl<sub>3</sub>), ethylacetate(EtOAc), butanol(BuOH)을 사용하여 순차적으로 용매 분획을 실시하였다. 분획된 시료는 여과와 농축 및 동결건조 후 추출물과 함께 4°C 이하로 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

**총 Polyphenol 함량 측정** - Folin-Denis법을 이용하여 75% EtOH 추출물 및 분획물의 polyphenol 함량을 측정하였다.<sup>11)</sup> Methanol에 1 mg/ml농도로 용해시킨 시료액 80 µl와 Folin-Denis reagent 80 µl를 혼합하여 3분간 반응시킨 뒤 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 80 µl를 혼합하여 1시간동안 암실에서 반응시킨 후, 상등액 120 µl를 취하여 96 well plate에 옮겨 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 tannic acid를 0~500 µg/ml의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 표준 검량선을 작성하고 총 polyphenol 함량을 mg/g로 나타내었다.

**총 Flavonoid 함량 측정** - 페놀성 화합물중 특히 여러 가지 기능성을 나타내는 것으로 알려진 flavonoid 함량을 알아보기 위해 Moreno 등의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다.<sup>12)</sup> 1 mg/ml 농도로 methanol에 용해시킨 시료액 100 µl와 10% aluminium nitrate 20 µl, 1M potassium acetate 20 µl, methanol 860 µl를 차례로 혼합하여 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 rutin 0~500 µg/ml의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 표준 검량선을 작성하고 총 flavonoid 함량을 mg/g으로 나타내었다.

**DPPH Radical 소거능 측정** - MeOH 추출물과 분획물의 항산화활성을 비교하기 위해 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)을 사용하여 radical 소거능을 측정하였다.<sup>13)</sup> 각 시료를 methanol에 0.1~5 mg/ml의 다양한 농도로 용해시킨 시료액 20 µl와 200 µM로 용해시킨 DPPH 용액 180 µl를 혼합하여 20분간 암실에서 반응시킨 후 microplate reader(BIO-TEK, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 바탕으로 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 농도(SC<sub>50</sub>)를 계산하였다. Positive control로 ascorbic acid(vitamin C)를 사용하였다.

**Disc Diffusion Assay에 의한 항균활성 측정** - 유근피 추출물과 분획물의 항균활성을 비교하기 위하여 각 균주를 대상으로 disc diffusion assay로 측정하였다. 항균시험용 평판배지는 계대 배양된 각 균주 배양액을 100 µl씩 분주한 후 멸균 면봉을 이용하여 도말하여 준비하였고, 시료를 disc 당 1.0, 5.0 mg이 되도록 직경 6 mm의 paper disc에 천천히 흡수시킨 뒤 건조과정을 거쳐 용매를 휘발시킨 후 평판배지 위에 밀착시킨 상태로 37°C에서 24시간 배양한 후 disc를 중심으로 생성된 저해환(clear zone, mm)을 측정하여 항균활성을 비교하였다.

**Tyrosinase 저해 활성** - Tyrosinase 저해 활성은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 방법을 이용하였다.<sup>14)</sup> 농도별 시료액 20 µl와 0.1 M phosphate buffer 100 µl를 혼합하여 5분간 실온에서 반응시켰다. 반응액에 1 Kunit/ml tyrosinase(in 0.1M phosphate buffer) 30 µl와 1.5mM tyrosine 30 µl를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 완료되면 490 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 0.1M phosphate buffer 용액을 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 저해 활성을 산출하였고, positive control로 arbutin을 사용하였다.

**MTT Assay에 의한 세포독성 측정** - 추출물 및 분획물의 세포독성은 MTT assay 방법에 의해 측정하였다.<sup>15)</sup> 배양된 L929세포를 96 well plate에 2×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 분주하여 24시간 배양하여 부착 및 안정화시킨 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<sub>2</sub> 조건에서 4시간 동안 반응시켜 MTT가 환원되도록 하였다. 배지를 제거한 후, 각 well에 100 µl의 DMSO를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 용해시켜 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 PBS를 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 세포 생존율 산출하였다.

**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, 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

**Total Polyphenol 및 Flavonoid 함량** – 식물은 다양한 2차 대사산물을 생성하는데, 이 중 항암, 항산화, 항염증 등 다양한 생리활성을 가지는 기능성물질들이 있다.<sup>16)</sup> 이러한 기능성물질들은 대부분 polyphenol류 혹은 flavonoid 계열이다. Polyphenol 화합물은 hydroxyl기를 가지는 방향족 화합물로서 superoxide, hydroxy radical과 같은 세포손상을 초래하는 free radical을 없애주는 항산화활성, 항암활성 등 여러 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>17,18)</sup> 한편, 플라보노이드는 C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>의 기본구조를 가진 전형적인 페놀성 화합물로서 항산화활성을 비롯하여 항암, 항균 등 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있다.<sup>19)</sup> 유근피 MeOH 추출물과 용매 분획별 시료의 polyphenol과 flavonoid 함량을 측정된 결과를 Table I에 제시하였다. 추출물 중 polyphenol 함량이 478.79 mg/g으로 나타났고, 용매 분획별 시료에서 EtOAc 분획과 BuOH 분획의 함량이 각각 948.16 mg/g, 576.08 mg/g으로 추출물보다 높게 나타났다. 하지만 Hexane, CHCl<sub>3</sub>, aqueous 분획의 함량은 각각 55.49 mg/g, 255.20 mg/g, 227.38 mg/g으로 추출물보다 낮아지는 것으로 나타났다. 추출물의 flavonoid 함량이 2.90 mg/g으로 확인되었고, 추출물과 동량의 flavonoid 함량을 보여준 aqueous 분획을 제외한 모든 분획물에서 추출물보다 높은 함량을 보여주었다. 특히 CHCl<sub>3</sub> 분획은 29.45 mg/g으로 다른 분획보다 월등히 높은 함량을 보여주었다. 이러한 결과는 추출물 중에 존재하는 polyphenol 화합물의 경우 EtOAc와 BuOH 분획으로 대부분 분리되어 나왔으나, flavonoid 화합물은 CHCl<sub>3</sub> 분획으로 분리되어 나온 것을 의미한다.

**Table I.** Polyphenol and flavonoid content of extract and fractions from bark of *Ulmus davidiana*

| (unit : mg/g) |                                |                           |
|---------------|--------------------------------|---------------------------|
| Sample        | Polyphenol                     | Flavonoid                 |
| MU            | 478.79 ± 15.64 <sup>1)c*</sup> | 2.90 ± 0.00 <sup>d</sup>  |
| HF            | 55.49 ± 0.23 <sup>e</sup>      | 10.60 ± 0.40 <sup>b</sup> |
| CF            | 255.20 ± 22.32 <sup>d</sup>    | 29.45 ± 0.88 <sup>a</sup> |
| EF            | 948.16 ± 17.98 <sup>a</sup>    | 9.83 ± 0.27 <sup>b</sup>  |
| BF            | 576.08 ± 34.09 <sup>b</sup>    | 4.14 ± 0.36 <sup>c</sup>  |
| AF            | 277.38 ± 12.89 <sup>d</sup>    | 2.90 ± 0.47 <sup>d</sup>  |

MU; Methanol extract of *Ulmus davidiana*, HF; *n*-Hexane fraction, CF; Chloroform fraction, EF; Ethyl acetate fraction, BF; *n*-Butanol fraction, AF; Aqueous fraction.

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

\*Different superscript letters show significant differences at  $p < 0.05$  by One-way ANOVA.

**DPPH Radical 소거능** – 유근피 추출물과 용매 분획별 항산화 활성을 확인하기 위해 실시한 DPPH radical 소거능 측정에서 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 시료의 농도를 산출한 SC<sub>50</sub> 값과 positive control로 사용된 L-ascorbic acid의 SC<sub>50</sub> 값을 기준으로 비교한 relative activity를 Table II에 나타내었다. EtOAc 분획의 SC<sub>50</sub> 값이 134.33 µg/ml로 262.67 µg/ml인 추출물보다 높은 활성을 보여주었다. 이와 같은 SC<sub>50</sub> 수치는 relative activity에 나타난 바와 같이 EtOAc 분획의 활성이 55.33% 수준으로 positive control보다 낮은 수준의 항산화 효과를 보여주었다. 기존의 연구들에서 DPPH radical 소거능과 같은 항산화 활성이 polyphenol 화합물의 함량과 밀접한 연관관계가 있다고 알려져 왔는데, Table I의 polyphenol 함량 측정의 결과와 DPPH radical 소거능을 살펴본 결과 유근피 추출물 및 분획물에서도 유사한 양상임을 확인할 수 있었다.<sup>20-22)</sup>

**Disc Diffusion Assay에 의한 항균활성** – Disc diffusion assay를 이용하여 유근피 추출물과 분획의 항균활성을 비교하여 Table III에 나타내었다. 추출물의 *S. aureus*, *S. epidermidis*에 대한 항균활성 결과를 살펴보면 실험을 실시한 3가지 농도 중 가장 고농도인 2.0 mg/disc에서 각각 9.23 mm, 7.17 mm의 생육저해환을 형성하였으며, 1.0, 0.5 mg/disc에서는 생육저해환을 형성하지 못하였다. 분획물의 *S. aureus*에 대한 항균활성의 경우 2.0 mg/disc에서는 EtOAc 분획이 가장 큰 생육저해환을 형성하였으나 1.0, 0.5 mg/disc에서는 CHCl<sub>3</sub> 분획의 항균활성이 더 우수한 것으로 나타났다. *S. epidermidis*에 대한 분획물의 항균활성 또

**Table II.** SC<sub>50</sub> values in DPPH radical scavenging ability of extract and fractions from bark of *Ulmus davidiana*

| Sample | SC <sub>50</sub> (µg/ml) <sup>1)</sup> | Relative activity(%) <sup>2)</sup> |
|--------|--|------------------------------------|
| MU     | 262.67 ± 12.42 <sup>3)c*</sup>         | 28.30                              |
| HF     | 1790.33 ± 36.83 <sup>e</sup>           | 4.15                               |
| CF     | 542.00 ± 20.78 <sup>f</sup>            | 13.71                              |
| EF     | 134.33 ± 1.53 <sup>b</sup>             | 55.33                              |
| BF     | 318.00 ± 10.54 <sup>d</sup>            | 23.38                              |
| AF     | 431.00 ± 12.49 <sup>e</sup>            | 17.25                              |
| AA     | 74.33 ± 3.21 <sup>a</sup>              | 100.00                             |

MU; Methanol extract of *Ulmus davidiana*, HF; *n*-Hexane fraction, CF; Chloroform fraction, EF; Ethyl acetate fraction, BF; *n*-Butanol fraction, AF; Aqueous fraction, AA; L-Ascorbic acid. L-Ascorbic acid was used as a positive control.

<sup>1)</sup>SC<sub>50</sub> value is concentration of each samples for scavenging 50% of DPPH radical.

<sup>2)</sup>Relative activity: a ratio of SC<sub>50</sub> value compared to positive control (ascorbic acid).

<sup>3)</sup>Values are mean ± SD (n=3)

\*Different superscript letters show significant differences at  $p < 0.05$  by One-way ANOVA.

**Table III.** Antibacterial activities of extract and fractions from bark of *Ulmus davidiana*

| Sample | Concentration (mg/disc) | Diameter of clear zone (mm)  |                           |
|--------|-------------------------|------------------------------|---------------------------|
|        |                         | <i>S. aureus</i>             | <i>S. epidermidis</i>     |
| MU     | 2.0                     | 9.23 ± 0.31 <sup>1)fg*</sup> | 7.17 ± 0.46 <sup>ef</sup> |
|        | 1.0                     | - <sup>2)</sup>              | -                         |
|        | 0.5                     | -                            | -                         |
| HF     | 2.0                     | 8.83 ± 0.57 <sup>gh</sup>    | 7.00 ± 0.26 <sup>g</sup>  |
|        | 1.0                     | 8.53 ± 0.12 <sup>hi</sup>    | -                         |
|        | 0.5                     | 8.00 ± 0.26 <sup>ijk</sup>   | -                         |
| CF     | 2.0                     | 9.63 ± 0.06 <sup>f</sup>     | 8.63 ± 0.25 <sup>e</sup>  |
|        | 1.0                     | 9.33 ± 0.21 <sup>fg</sup>    | 7.80 ± 0.00 <sup>fg</sup> |
|        | 0.5                     | 9.17 ± 0.60 <sup>fg</sup>    | 6.97 ± 0.06 <sup>g</sup>  |
| EF     | 2.0                     | 10.87 ± 0.72 <sup>e</sup>    | 8.50 ± 0.20 <sup>e</sup>  |
|        | 1.0                     | 8.37 ± 0.35 <sup>hij</sup>   | -                         |
|        | 0.5                     | 7.73 ± 0.12 <sup>k</sup>     | -                         |
| BF     | 2.0                     | 9.10 ± 0.52 <sup>fg</sup>    | -                         |
|        | 1.0                     | 7.90 ± 0.26 <sup>jk</sup>    | -                         |
|        | 0.5                     | -                            | -                         |
| AF     | 2.0                     | 7.67 ± 0.38 <sup>k</sup>     | -                         |
|        | 1.0                     | -                            | -                         |
|        | 0.5                     | -                            | -                         |
| GM     | 0.5                     | 25.40 ± 0.20 <sup>b</sup>    | 28.70 ± 0.72 <sup>a</sup> |
|        | 0.1                     | 20.60 ± 0.10 <sup>d</sup>    | 25.20 ± 0.26 <sup>b</sup> |
| SM     | 0.5                     | 29.43 ± 0.32 <sup>a</sup>    | 16.97 ± 0.75 <sup>c</sup> |
|        | 0.1                     | 24.73 ± 0.32 <sup>c</sup>    | 10.83 ± 0.68 <sup>d</sup> |

MU; Methanol extract of *Ulmus davidiana*, HF; *n*-Hexane fraction, CF; Chloroform fraction, EF; Ethyl acetate fraction, BF; *n*-Butanol fraction, AF; Aqueous fraction, GM; Gentamicin, SM; Streptomycin. Gentamicin and streptomycin were used as a positive control.

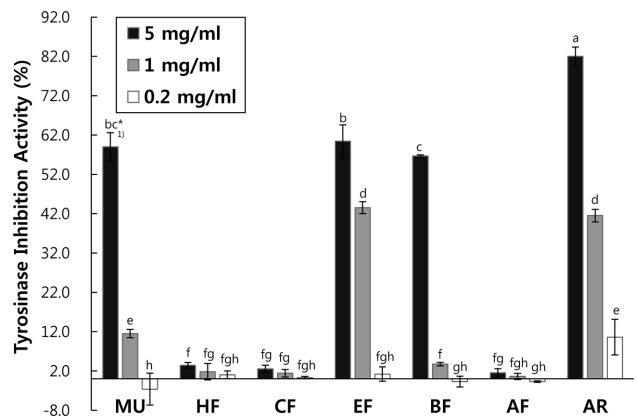
<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>NO inhibition.

\*Different superscript letters show significant differences at p<0.05 by One-way ANOVA.

한 *S. aureus*에 대한 항균활성과 유사하게 2.0 mg/disc에서는 CHCl<sub>3</sub>, EtOAc 분획이 가장 높은 활성을 보여주었으나 1.0, 0.5 mg/disc에서는 CHCl<sub>3</sub> 분획의 활성이 다른 분획물에 비해 우수한 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 Table I의 flavonoid 함량 측정의 결과와 유사한 양상임을 확인할 수 있는데, 이는 기존의 연구들에서 제시한 것과 마찬가지로 항균활성이 flavonoid 화합물의 함량과 밀접한 연관 관계가 있음을 확인할 수 있었다.<sup>23-25)</sup>

**Tyrosinase 저해 활성** – 멜라닌은 자외선을 차단하여 피부를 보호하는 작용을 하기도 하지만 과도하게 생성되거나 분포의 이상으로 인해 주근깨, 기미, 피부반점, 피부노화 및



**Fig. 1.** Tyrosinase inhibition activities of extract and fractions from bark of *Ulmus davidiana*.

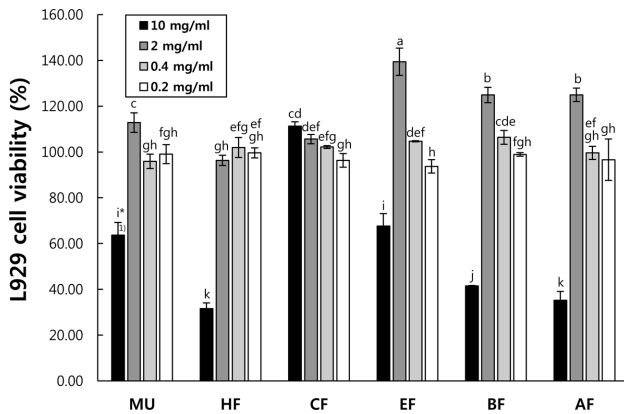
MU; Methanol extract of *Ulmus davidiana*, HF; *n*-Hexane fraction, CF; Chloroform fraction, EF; Ethyl acetate fraction, BF; *n*-Butanol fraction, AF; Aqueous fraction, AR; Arbutin. Arbutin was used as a positive control.

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

\*Different superscript letters show significant differences at p<0.05 by One-way ANOVA.

피부암을 유발하는 것으로 알려져 있다.<sup>26-28)</sup> 이러한 피부 색소 침착, 피부암 방지 및 미백활성 연구는 주로 tyrosinase 활성을 조절하는 방향으로 연구되어왔다. tyrosinase는 tyrosine hydroxylase 활성과 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) oxidase 활성을 가지고 있어 아미노산의 일종인 tyrosine이 DOPA quinone으로 전환되는 과정을 촉매하는 효소로서 멜라닌 생성과정 중에 굉장히 중요한 역할을 하는 효소이다.<sup>29,30)</sup> 유근피의 추출물과 용매 분획별 tyrosinase 저해활성 측정 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 유근피 추출물의 tyrosinase 저해활성을 살펴보면 고농도인 5.0 mg/ml에서 58.99%의 활성을 나타내었다. 분획의 경우 5.0 mg/ml의 시료를 처리하였을 때, EtOAc 분획과 BuOH 분획이 각각 60.40%, 56.67%로 높은 활성을 보여주었다. 특히 EtOAc 분획의 경우 1.0 mg/ml의 농도로 처리하였을 때 43.54%의 tyrosinase 저해활성을 보여줌으로써 41.52%의 활성을 나타낸 arbutin보다 높은 활성을 보여주었다. 이러한 결과는 항산화 활성과 tyrosinase 저해 활성이 높은 상관관계를 보여준다는 연구와 일치하는 결과이다.<sup>31)</sup>

**MTT Assay에 의한 세포독성** – 정상세포주인 L929 cell에서 유근피 추출물과 분획물의 세포독성을 측정한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 추출물을 10 mg/ml의 농도로 세포에 처리하였을 때, 63.64%의 세포 생존율을 보여줌으로써 세포의 성장을 저해하는 것으로 판단되었다. 분획의 경우 Hexane, BuOH 및 aqueous 분획을 10 mg/ml의 농도로 처리하였을 때, 각각 31.60%, 41.49%, 35.23%의 세포 생존율을 나타내며 독성이 있는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 가



**Fig. 2.** L929 cell viabilities of extract and fractions from bark of *Ulmus davidiana*.

MU; Methanol extract of *Ulmus davidiana*, HF; *n*-Hexane fraction, CF; Chloroform fraction, EF; Ethyl acetate fraction, BF; *n*-Butanol fraction, AF; Aqueous fraction.

<sup>1)</sup> Values are mean  $\pm$  SD (n=3).

\*Different superscript letters show significant differences at  $p < 0.05$  by One-way ANOVA.

장 우수한 항균활성을 보인  $\text{CHCl}_3$  분획과 항산화 활성과 tyrosinase 저해활성이 우수하였던 EtOAc 분획을 10 mg/ml로 처리하였을 때 각각 111.30%, 67.59%의 세포 생존율을 보여줌으로써 우려할 만한 독성은 없는 것으로 판단되었다. 또한 고농도를 제외한 모든 농도에서 추출물과 분획의 세포 생존율이 93.70~124.90%로 세포 독성을 나타내지 않았다.

## 결론

본 연구에서는 유근피의 추출물 및 용매분획별 시료의 항산화 및 항균활성, 미백활성 그리고 세포독성을 비교하여 피부 관련 기능성 소재로서의 활용가능성을 살펴보았다. 총 polyphenol 함량을 측정된 결과, MeOH 추출물 중 polyphenol 함량이 478.79 mg/g으로 나타났고, 용매 분획별 시료에서 EtOAc 분획의 polyphenol 함량이 948.16 mg/g으로 추출물과 다른 분획보다 높게 나타났다. Flavonoid 함량의 경우, 추출물의 flavonoid 함량이 2.90 mg/g으로 확인되었고, 추출물과 동량의 flavonoid 함량을 보여준 aqueous 분획을 제외한 모든 분획물에서 추출물보다 높은 함량을 보여주었다. DPPH radical 소거능 측정을 통해 항산화 활성을 확인한 결과, polyphenol 화합물의 함량이 가장 높았던 EtOAc 분획의  $\text{SC}_{50}$  값이 134.33  $\mu\text{g/ml}$ 로 추출물과 다른 분획보다 높은 활성을 보여주었다. Tyrosinase 저해활성을 측정된 결과, EtOAc 분획이 높은 tyrosinase 저해활성을 보여줌으로써 항산화 활성과 tyrosinase 저해 활성이 높은 상관관계를 확인할 수 있었다. 피부 상재균으로 알려진 *S. aureus*, *S. epidermidis*에 대한 항균활성에서  $\text{CHCl}_3$  분획이 실험을

실시한 모든 농도에서 높은 활성을 보여주었는데 이러한 결과는  $\text{CHCl}_3$  분획의 flavonoid 함량이 다른 시료에 비해 높게 나온 결과와 높은 연관성이 있는 것으로 판단되어진다. 정상세포주인 L929 cell을 이용하여 세포독성을 측정된 결과, hexane, BuOH 및 aqueous 분획을 고농도로 처리하였을 때 세포독성이 있다는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 고농도를 제외한 모든 농도에서 추출물과 분획 모두 세포독성이 없는 것을 확인하였으므로 독성의 우려가 없이 높은 활성을 보여주는 농도 설정이 필요할 것으로 판단되었다.

이상의 결과를 종합해 보면 추출물 중에 존재하는 생리활성 물질의 대부분이 EtOAc 분획과  $\text{CHCl}_3$  분획으로 분리되어 나온 것으로 판단할 수 있으며, EtOAc 분획의 높은 항산화 활성과 미백활성 및  $\text{CHCl}_3$  분획의 항균활성을 통해 기능성 소재로의 가능성을 확인하였다.

## 인용문헌

- Choi Y. H., Kwon O. K. and Moon J. G. (2003) Dyeability and antibacterial activity of the fabrics with elm-bark extracts. *J. Korean. Soc. Dyers and Finishers*. **15**: 14-19.
- Kim, Y. S., Kim, J. H. and Kim, K. H. (2004) Cosmetic properties of polysaccharides from the root bark of *Ulmus davidiana* var. *japonica*. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*. **30**: 509-514.
- Hong, N. D., Rho, Y. S., Kim, N. J. and Kim, J. S. (1990) Studies on the constituents of Ulmi cortex. *Kor. J. Pharmacog.* **21**: 200-204.
- Kim, C. S., Lee, J. M., Choi, C. O., Park, S. B. and Eom, T. J. (2002) Chemical analysis and isolation of antibacterial compound from *Ulmus species* (1): Chemical analysis and antibacterial activity of extractives. *Mokchae Konghak*. **30**: 66-73.
- Shin, S. J., Yoon, M. H., Kwon, S. K. and Choi, W. Y. (1999) Effects of root bark components from the Elm (*Ulmus davidiana* var. *japonica*) on mastitis pathogens. *J. Agri. Sci. Chungnam Nat'l Univ.* **26**: 71-76.
- Seo, J. H., Lee, Y. J., Jo, Y. I., Ko, J. Y., Mun, M. J., Park, K. H. and Choi, S. E. (2018) Anti-fungal, anti-oxidant, and anti-inflammatory effects of supercritical fluid extracts from *Ulmus davidiana*. *J. Kor. Convergence Soc.* **9**: 225-233.
- Park, J. H. and Ahn, J. J. (2016) Antioxidant activities of powdered and ultra-fine powdered *Ulmus davidiana* var. *japonica*. *Kor. J. Community Living Sci.* **27**: 343-350.
- Baek, I. S., Im, L. H., Pack, C. and Choi, Y. H. (2015) Anti-cancer potentials of *Rhus verniciflua* stokes, *Ulmus davidiana* var. *japonica* Nakai and arsenium sublimatum in human gastric cancer AGS cells. *J. Life Sci.* **25**: 849-860.
- Gwon, H. J., Park, E. J., Choi, J. B., Lim, J. Y., Jeong, J. O., Shin, Y. M., Jeong, S. I., Park, J. S., Lim, Y. M., Choi, Y. H. and Kim, S. S. (2014) Radiation synthesis and anti-inflam-

- matory evaluation of polysaccharide hydrogels from *Ulmus davidiana* var. *japonica*. *Polymer*. **38**: 69-73.
10. Um, M. Y., Choi, W. H., Ahn J. Y. and Ha, T. Y. (2013) Effects of ethanolic extract of *Ulmus davidiana* root on lipid metabolism in high-fat diet fed mice. *Kor. J. Food and Nutr.* **26**: 8-14.
  11. Otto, F. and Denis, W. (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* **12**: 239-243.
  12. Moreno, M. I. N., Sampietro, A. R. and Vattuone, M. A. (2000) Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* **71**: 109-114.
  13. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. **181**: 1199-1200.
  14. 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.
  15. 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 Raw 264.7 cells. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**: 223-227.
  16. Formica, J. and Regelson, W. (1995) Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chem. Toxicology* **33**: 1061-1080.
  17. Liu, R. H. (2004) Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention : mechanism of action. *J. Nutr.* 3479S-3485S.
  18. 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.
  19. Dewick, P. M. (2002) Medicinal natural products. *Wiley & Sons, Chichester*. 149-151.
  20. Choi, D. H., Lee, H. J. and Lee, S. S. (2003) Studies on biological activity of wood extractives (7)-antimicrobial and antioxidation activities of extractives from the heartwood of *Prunus sargentii*. *J. Korean Wood Sci. and Tech.* **31**: 16-23.
  21. Veliogly, Y. S., Mazza, G, Gao, L. and Oomah, B. D.(1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 4113-4117.
  22. Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., Zhu, N., LaVoie, E. J., Huang, T. C. and Ho, C. T. (1998) Antioxidative phenolic compound from sage (*Salvia officinalis*). *J. Agric. Food Chem.* **46**: 4869-4873.
  23. Kim, J. Y., Lee, J. A., Kim, K. N., Song, G. P. and Park, S. Y. (2007) Antioxidative and antimicrobial activities of *Euphorbia helioscopia* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**: 1106-1112.
  24. Kim, J. Y., Lee J. A., Kim, K. N., Yoon W. J., Lee, W. J. and Park, S. Y. (2007) Antioxidative and antimicrobial activities of *Sargassum muticum* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**: 663-669.
  25. Kim, H. K., Lee, M. Y., Hong, I. P., Choi, Y. S., Kim, N. S., Lee, M. L. and Lee, S. C. (2010) Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral honey correlation with phenolic and flavonoid contents. *Korean J. Apiculture.* **25**: 275-282.
  26. Bell, A. A. and Weeler, M. H. (1986) Biosynthesis and function of fungal melanin, *Ann. Rev. Phthopathol.* **24**: 411-451.
  27. Chen, J. S., Wei, C. and Marshall, M. R. (1991) Inhibition mechanism of Kojic acid on polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.* **39**: 1897-1901.
  28. Urabe, K., Aroca, P., Tsukamoto, K., Mascagna, D., Paulumbo, A., Prota, G. and Hearing, VJ. (1994) The inherent cytotoxicity of melanin precursors. *Biochim. Biophys. Acta.* **1221**: 272-278.
  29. Ferguson, C. A. and Kidson, S. H. (1997) The regulation of tyrosinase gene transcription. *Pigment. Cell Res.* **10**: 127-138.
  30. Hearing, V. J. and Tsukamoto, K. (1991) Enzymatic control of pigmentation in mammals. *FASEB J.* **5**: 2902-2909.
  31. Kim, D. M., Kim, K. H., Kim, Y. S., Koh, J. H., Lee, K. H. and Yook, H. S. (2012) A study on the development of cosmetic materials using unripe peaches seed extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 110-115.

(2019. 5. 21 접수; 2019. 6. 17 심사; 2019. 6. 18 게재확정)