

## 산초 및 그 활성성분이 사염화탄소를 투여한 Mouse에 있어서 지질과산화 및 간손상 억제에 미치는 영향

문숙임<sup>†</sup> · 류홍수\* · 최재수\*

동주여자전문대학 식품영양과

\*부경대학교 식품생명과학과

### Inhibition Effects of *Zanthoxylum schinifolium* and Its Active Principle on Lipid Peroxidation and Liver Damage in Carbon Tetrachloride-treated Mice

Sook-Im Mun<sup>†</sup>, Hong-Soo Ryu\* and Jae-Sue Choi\*

Dept. of Food and Nutrition, Dong-Ju Women's Junior College, Pusan 604-715, Korea

\*Dept. of Food and Life Science, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

#### Abstract

The present study was undertaken to investigate the inhibition effects of sancho(*Zanthoxylum schinifolium*) on lipid peroxidation and liver damage in carbon tetrachloride-treated mice. Mice aged 3 weeks old were fed diets containing either dry sancho powder, methanol extract or hyperoside isolated from sancho at the various levels for 2 weeks(sancho, methanol extract from sancho) or 3 days (hyperoside) before CCl<sub>4</sub> treatments. Seed coats of sancho added to diet with the levels from 1.25 to 5.0% significantly reduced(p<0.001) thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) formation in liver and serum of mice treated with carbon tetrachloride. CCl<sub>4</sub> treatments significantly increased (p<0.001) in liver TBARS comparing with those of the untreated control, while methanol extract from the seed coat of sancho added to diet with the levels from 0.5 to 1.0% significantly reduced (p<0.01) liver TBARS in mice treated with CCl<sub>4</sub>, and administration of hyperoside with the levels from 10 to 20mg per kg of body weight showed significant reduction(p<0.01, p<0.001) of liver TBARS in mice treated with CCl<sub>4</sub>. CCl<sub>4</sub> treatments significantly increased(p<0.05) in serum TBARS comparing with those of the untreated control, while methanol extract from the seed coat of sancho added to diet with the levels from 0.5 to 1.0% significantly reduced(p<0.01) serum TBARS in mice treated with CCl<sub>4</sub>, and administration of hyperoside with the levels from 10 to 20mg per kg of body weight showed significant reduction(p<0.01, p<0.001) of serum TBARS in mice treated with CCl<sub>4</sub>. CCl<sub>4</sub> treatments significantly increased(p<0.001) in serum AST activities comparing with those of the untreated control, while either addition(0.5, 1.0%) of methanol extract from sancho or administration(10, 20mg/kg) of hyperoside significantly reduced(p<0.001, p<0.05) serum AST activities in CCl<sub>4</sub>-treated mice. CCl<sub>4</sub> treatments showed significant increases(p<0.001) in serum ALT activities comparing with those of the untreated control, while either addition(0.5, 1.0%) of methanol extract from sancho or administration (10, 20mg/kg) of hyperoside showed moderate decreases(p<0.01, p<0.001) serum ALT activities in CCl<sub>4</sub>-treated mice.

**Key words:** *Zanthoxylum schinifolium*, hyperoside, TBARS, AST activity, ALT activity

#### 서론

BHA(butylated hydroxyanisole), BHT(butylated hydroxytoluene)와 같은 페놀계 합성 항산화제는 항산화 효력과 경제성이 뛰어나기 때문에 식품에 널리 사용

되어 왔다. 그러나 이들의 인체에 대한 독성(1, 2)과 발암성(3)이 보고된 이후로 이들의 사용이 점점 기피되고 있는 실정이다. 따라서, 천연자원으로부터 이들 합성 항산화제에 대체할 수 있는 항산화 효력이 높으면서도 안전하고 경제적인 천연 항산화제를 찾아내는 것이 절

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

실히 요구되어 식품에 함유되어 있는 항산화제로 toco-pherol(4-9), L-ascorbic acid(4,9-11), carotenoids(12, 13), 합황아미노산 및 아미노산 유도체(14-18), 페놀성 화합물(19-26), 갈변 반응물질(27-33), 인지질(34) 등에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

산초는 우리나라 야산에 널리 자생하여 경제적인 뿐만 아니라, 추어탕에 첨가되는 점으로 미루어 보아, 이의 첨가는 단순히 비린내 제거목적 뿐만 아니라 민물추어에 많이 함유된 불포화지방산의 과산화억제 효과와도 관련이 있을 것으로 추정되어 식품학적으로 더 연구할 가치가 있다고 생각되었다.

본 연구에서는 산초의 식품학적(35-44), 약리학적 가치(45-49) 외에 그의 식품학적 가치를 더 구명하기 위해 이미 *in vitro* 실험에서 산초 및 그 활성성분인 quercetin-3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside(hyperoside)가 항산화능이 매우 높다는 사실이 밝혀진 것(50)에 이어 동물 체내에서 이들의 효과를 입증하기 위해 산초종피, 산초종피의 메탄올 추출물과 산초종피의 주된 flavonoid인 hyperoside를 mouse에 급이 또는 투여한 후 사염화탄소를 투여하여 간 및 혈청에서의 이들의 지질과산화억제효과 및 간독성 예방효과를 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

경상남도 사천군 무고리에서 자생하는 산초(*sancho*, *Zanthoxylum schinifolium*)를 1994년 9월에 직접 채취하여 저온(40°C)에서 2일간 열풍건조한 뒤 종피만을 분쇄한 것, 산초종피 메탄올 추출물과 그리고 이에서 분리, 정제한 hyperoside(50)를 실험에 사용하였다.

### 실험동물

한국화학연구소(대전) 실험동물 사육실로부터 3주령의 숫컷 ICR계 mouse를 구입하여 온도(22±2°C), 습도(65±2%)와 명암주기(12시간)가 자동적으로 조절된 부경대학교 동물실험실에서 2주간 Table 1에서 나타낸 바와 같이 제조한 기본식이(basal diet)로 사육한 후 산초종피 첨가효과를 확인하기 위한 실험동물로 하였다. 이어서 동일조건에서 mouse를 구입하여 동일환경에서 적응시킨 후, 산초종피 메탄올 추출물 및 hyperoside 첨가효과를 측정하기 위한 실험동물로 하였다.

### 식이조성

기본식이의 조성은 Table 1에 나타내었으며 비타민

Table 1. Composition of basal diets

Mineral mix. <sup>1)</sup>	35g
Vitamin mix. <sup>2)</sup>	10g
DL-methionine	3g
Cellulose	50g
Choline chloride(25% in D.W)	8ml
Corn starch	150g
Casein	200g
Corn oil	50g
Sucrose	500g
Total	1kg
<sup>1)</sup> Composition of salt mixture (g/100g salt mix.)	
Calcium carbonate	29.29
Monopotassium phosphate	34.41
Monocalcium phosphbat · 2H <sub>2</sub> O	0.43
Sodium chloride	25.06
Magnesium sulfate	9.98
Copper sulfate · 7H <sub>2</sub> O	0.156
Ferric citrate · 6H <sub>2</sub> O	0.623
Manganese sulfate · H <sub>2</sub> O	0.121
Zinc chloride	0.2
Potassium iodide	0.0005
Ammonium molybdate · 4H <sub>2</sub> O	0.0025
<sup>2)</sup> Composition of vitamin mixture (mg/100g)	
Retinol acetate	93.2
Vitamin D <sub>3</sub>	0.5825
$\alpha$ -Tocopherol acetate	1200.0
Vitamin K <sub>3</sub>	6.0
Thiamin · HCl	59.0
Vitamin B <sub>2</sub>	59.0
Pyridoxine · HCl	29.0
Vitamin B <sub>12</sub>	0.2
Vitamin C	588.0
Biotin	1.0
Folic acid	2.0
Calcium pantothenate	235.0
Nicotinic acid	294.0
Inositol	1176.0
<sup>1), 2)</sup> AIN-76(51)	

과 미네랄의 조성은 AIN-76(51)에 따랐다. 산초종피를 첨가한 실험식이의 조성은 Table 2에, 산초메탄올 추출물, hyperoside를 투여한 실험식이의 조성은 Table 3에 각각 나타내었다. 즉, 산초종피는 기본식이에 1.25%, 2.5%, 5.0%씩 첨가하고 mouse를 2주간 사육한 후, 산초종피 메탄올 추출물은 기본식이에 0.5%, 1.0%씩 첨가하고 mouse를 2주간 사육한 후, hyperoside는 10mg/kg과 20mg/kg 농도로써 3일간 1일 1회 복강 투여한 후, 각각 사염화탄소를 단독 전 2일간 1일 1회씩 0.5ml/kg의 농도로 복강 투여하였다. 단독 전 18시간 절식시킨 후 mouse를 희생시켰다.

### 혈청의 분리 및 간 homogenate의 조제

Mouse를 해부하기 18시간 전에 식이공급을 중단하

Table 2. Composition of experimental diet 1

Groups	Diet
B	Basal diet
CB	Basal diet + CCl <sub>4</sub> (0.5ml/kg)
CZB1	Basal diet + <i>Z. schinifolium</i> (1.25%) + CCl <sub>4</sub> (0.5ml/kg)
CZB2	Basal diet + <i>Z. schinifolium</i> (2.5%) + CCl <sub>4</sub> (0.5ml/kg)
CZB3	Basal diet + <i>Z. schinifolium</i> (5.0%) + CCl <sub>4</sub> (0.5ml/kg)

CCl<sub>4</sub> was given i.p. as 8%(v/v) solution in soybean oil at a dose of 6.4ml solution/kg(0.5ml of pure CCl<sub>4</sub>/kg)  
 B group was given i.p. as soybean oil at a dose of 6.4ml/kg

Table 3. Composition of experimental diet 2

Groups	Diet
B	Basal diet
CB	Basal diet + CCl <sub>4</sub> (0.5ml/kg)
CZMB1	Basal diet + <i>Z. schunifolium</i> MeOH ext.(0.5%) + CCl <sub>4</sub> (0.5ml/kg)
CZMB2	Basal diet + <i>Z. schunifolium</i> MeOH ext.(1.0%) + CCl <sub>4</sub> (0.5ml/kg)
CHB1	Basal diet + Hyperoside(10mg/kg) + CCl <sub>4</sub> (0.5ml/kg)
CHB2	Basal diet + Hyperoside(20mg/kg) + CCl <sub>4</sub> (0.5ml/kg)

CCl<sub>4</sub> was given i.p. as 8%(v/v) solution in soybean oil at a dose of 6.4ml solution/kg(0.5ml of pure CCl<sub>4</sub>/kg)  
 B group was given i.p. as soybean oil at a dose of 6.4ml/kg

고, 경부절단에 의해 채혈한 후, 약 1시간 동안 저온실에 방치한 뒤, 3000rpm으로 15분간 원심분리하여 그 상등액을 취하였다.

적출시킨 간조직은 냉각된 생리식염수로 즉시 씻고 여과지로 흡습시킨 후, 10배의 냉각된 1.15% KCl-10mM phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 teflon-pestle homogenizer로 균질화시킨 후 분석용 시료로 사용하였다.

간조직 및 혈청의 과산화지질 정량

사염화탄소 투여에 의해 생성된 과산화지질은 Ohkawa 등(52)의 방법으로 정량하였다. 즉, 시험관에 간 homogenate 및 혈청을 200μl씩 넣고 8.1% sodium dodecyl sulfate 용액을 200μl씩 첨가한 뒤 잘 혼합하였다. 이어서 20% acetic acid를 1.5ml씩 첨가하고 잘 혼합한 후, 1.2% TBA용액을 1.0ml씩 넣고 30분간 수욕상에서 가열한 후 실온에서 방냉시켰다. 이를 2000rpm에서 10분간 원심분리한 뒤 532nm에서 흡광도를 측정하였다. 과산화지질의 함량은 간조직 g당 또는 혈청 ml당 malondialdehyde n mole로 표시하였다

혈청의 AST, ALT 활성 측정

혈청 중의 AST(aspartate transaminase)와 ALT(alanine aminotransferase) 활성은 Reitman-Frankel의 방법(53)에 따라 조제된 kit(Asan pharm. Co. Ltd.)를 사용한 효소법으로 측정하여 혈청 ml당 Karmen 단위(54)로 나타내었다.

분석결과와 처리

실험결과를 통계처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군간의 유의성 검정은 Student's t-test(55)로 실시하였다

결과 및 고찰

지질과산화 억제효과

산초종피 첨가식에 의한 간조직 및 혈청에서의 지질과산화 억제효과

전보(50)에서 산초종피의 매탄올 추출물과 이에서 분리한 성분 중의 하나인 hyperoside는 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)시험에서 유리라디칼 제거효과가 매우 높았으므로 동물체내에서도 그러한 효과가 나타나는가를 입증하기 위해 생체막지질의 과산화물 생성 정도의 지표로 알려져 있는 TBARS(56)를 측정하였다. Fig. 1은 산초종피 첨가식이 사염화탄소 투여로 인한 mouse 간조직의 지질과산화 억제 정도를 나타낸 것이다. Basal diet를 급이하면서 처치 전 2일간 1일 1회씩 0.5ml/kg의 사염화탄소를 투여한 CB군과 basal diet만 급이한 대조군(B군)의 TBARS 농도는 간조직 1g당 각각 1.05, 0.40 nmole로, CB군은 basal diet만 급이한 대조군에 비해 TBARS가 약 2.7배나 증가하였다(p<0.001). 이는 mouse에 사염화탄소를 1ml/kg씩 1회 투여했을 경우, 대조군보다 2.4배 TBARS가 더 생성되었다는 이 등(57)의 보고와 같은 경향이었으며, 따

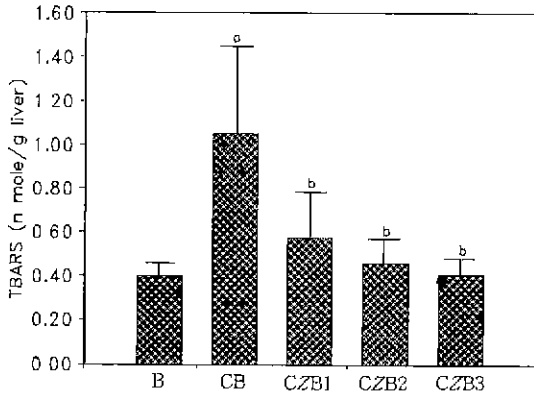


Fig. 1. Effects of the seed coat of *Z. schinifolium* added diet on the levels of liver TBARS in  $\text{CCl}_4$ -treated mice.

B: Basal diet

CB: Basal diet +  $\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)

CZB1: Basal diet + *Z. s.* (1.25%) +  $\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)

CZB2: Basal diet + *Z. s.*(2.5%) +  $\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)

CZB3: Basal diet + *Z. s.*(5.0%) +  $\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)

<sup>a</sup> $p < 0.001$  compared with control group(B)

<sup>b</sup> $p < 0.001$  compared with CB group.

라서 상기 농도는 mouse의 간손상을 확실히 유발시킨다는 사실을 시사한다. 이어서 basal diet에 산초종피를 1.25%, 2.5%, 5.0%씩 첨가한 실험군들(CZB1, CZB2, CZB3군)의 경우는 각각 0.57, 0.44, 0.41nmole/g이었으므로, 이를 첨가하지 않은 대조군(CB군: 1.05 nmole/g)에 비해 TBARS가 45.6%, 58.3%, 61.0%씩 감소하였다( $p < 0.001$ ). 이러한 사실은 한 등(58)이 흰쥐에 퀵카테킨과 사염화탄소를 투여한 실험군이 대조군에 비해 lipid peroxide가 훨씬 정도로 감소하였다는 보고보다 약간 더 감소한 경향이었으며, 또한 윤 등(59)이 mouse에 3일 간격으로 사염화탄소(0.3ml/kg)를 투여한 대조군과 사염화탄소와 진달래 화분립(2g/kg)을 동시에 투여한 실험군간의 비교실험에서, 실험군은 화분립 투여에 의해 대조군보다 MDA생성량이 17.2~29.0% 감소하였다는 보고보다 훨씬 더 감소한 경향이었으며, 양파를 4%, 양파즙을 2.0ml/kg씩 4주간 공급한 경우, 대조군보다 MDA생성량이 20.6%~23.8% 감소하였다는 박 등(60)의 보고보다도 훨씬 더 감소한 경향이였다.

한편, 산초와 사염화탄소를 투여한 실험군들은(CZB1, CZB2, CZB3군) 이를 투여하지 않은 대조군(B군)에 비해 TBARS가 2.5~42.5% 증가하였다. 특히 basal diet에 산초종피를 5.0% 첨가한 군(CZB3군)은 대조군에 비해 거의 TBARS가 증가하지 않았다. 이상과 같이 산초종피 첨가로 전술한 퀵카테킨, 진달래 화분립, 양파첨가보다 TBARS가 훨씬 감소한 사실로 미루어 보이지질과산화 억제효과가 우수한 성분이 산초종피에 함유

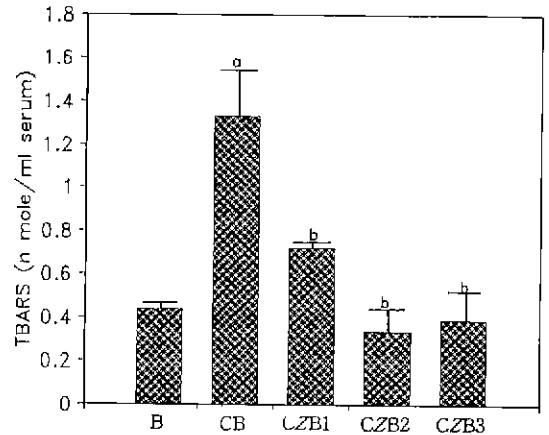


Fig. 2. Effects of the seed coat of *Z. schinifolium* added diet on the levels of serum TBARS in  $\text{CCl}_4$ -treated mice.

B: Basal diet

CB: Basal diet +  $\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)

CZB1: Basal diet + *Z. s.* (1.25%) +  $\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)

CZB2: Basal diet + *Z. s.* (2.5%) +  $\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)

CZB3: Basal diet + *Z. s.* (5.0%) +  $\text{CCl}_4$ (0.5ml/kg)

<sup>a</sup> $p < 0.001$  compared with control group(B)

<sup>b</sup> $p < 0.001$  compared with CB group.

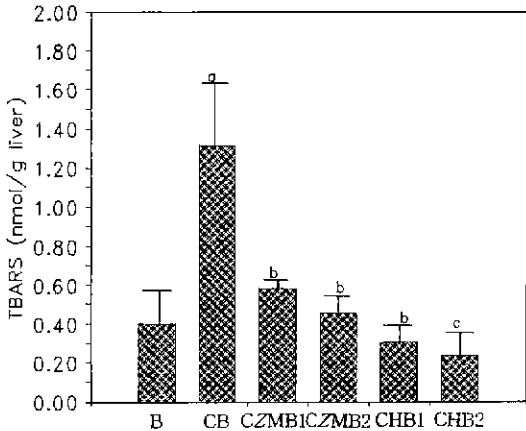
되어 있을 것으로 추정된다.

Fig. 2는 산초종피 첨가식이 사염화탄소 투여로 인한 mouse 혈청의 지질과산화 억제 정도를 나타낸 것이다. 산초종피를 1.25%, 2.5%, 5.0%씩 첨가한 실험식을 공급받은 CZB1, CZB2, CZB3군들의 혈청 중 TBARS 농도는 1.37, 0.74, 0.34nmole/g으로 대조군(CB군: 1.37nmole/g)에 비해 TBARS가 44.0%, 73.9%, 70.1%씩 감소하였다( $p < 0.001$ ). 한편, 5.0% 첨가군은 대조군과 TBARS가 거의 같은 수준이었다.

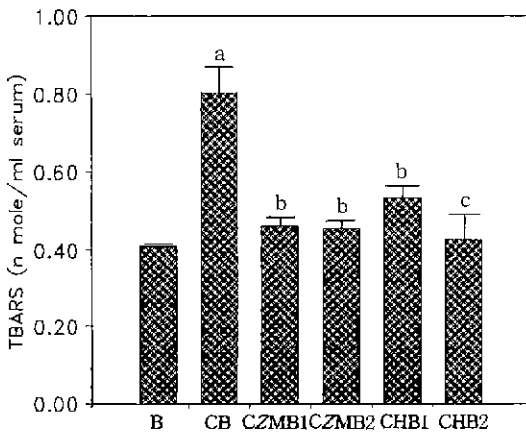
산초종피 메탄을 추출물 첨가식이 및 hyperoside 투여에 의한 간조직 및 혈청에서의 지질과산화 억제효과

Fig. 3과 Fig. 4에서는 산초종피 메탄을 추출물을 basal diet에 0.5%(CZMB1군), 1.0%(CZMB2군)씩 첨가하여 2주간 급이하거나, 산초에서 분리한 유리래디칼 제거성분인 hyperoside(50)를 10mg/kg(CHB1군), 20mg/kg(CHB2군)씩 3일간 1일 1회 복강투여한 후, 단 두하기 전 2일간 1일 1회씩 사염화탄소를 0.5ml/kg씩 투여하여 이로 인한 간조직 및 혈청의 지질과산화물 생성증가에 대한 이들 물질의 억제효과를 예방적 측면에서 살펴보고자 각각의 TBARS를 측정하여 비교하여 보았다.

그 결과 간조직의 경우, 사염화탄소 투여군(CB군)은 대조군(B)에 비해 약 3.2배 정도로 TBARS가 증가하였는데( $p < 0.001$ ), 이는 상기의 사염화탄소 투여량에



**Fig. 3. Effects of methanol extract from the seed coat of *Z. schinifolium* and hyperoside on liver TBARS in CCl<sub>4</sub>-treated mice.**  
 B: Basal diet  
 CB: Basal diet + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CZMB1: Basal diet + Z. s. MeOH ext.(0.5%) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CZMB2: Basal diet + Z. s. MeOH ext.(1.0%) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CHB1: Basal diet + Hyperoside(10mg/kg) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CHB2: Basal diet + Hyperoside(20mg/kg) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
<sup>a</sup>p<0.001 compared with control group(B)  
<sup>b</sup>p<0.01; <sup>c</sup>p<0.001 compared with CB group.



**Fig. 4. Effects of methanol extract from the seed coat of *Z. schinifolium* and hyperoside on serum TBARS in CCl<sub>4</sub>-treated mice.**  
 B: Basal diet  
 CB: Basal diet + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CZMB1: Basal diet + Z. s. MeOH ext.(0.5%) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CZMB2: Basal diet + Z. s. MeOH ext.(1.0%) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CHB1: Basal diet + Hyperoside(10mg/kg) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CHB2: Basal diet + Hyperoside(20mg/kg) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
<sup>a</sup>p<0.05 compared with control group(B).  
<sup>b</sup>p<0.01; <sup>c</sup>p<0.001 compared with CB group

의해 mouse의 간손상이 제대로 유발되었음을 시사한다. 한편, 산초종피 메탄을 추출물을 첨가한(0.5%, 1.0%) 실험군들(CZMB1, CZMB2)은 각각 0.59, 0.47nmole/g으로 대조군(CB군: 1.30nmole/g)에 비해 TBARS가 55.4%, 64.4%씩 감소하였는데(p<0.01), 이러한 사실은 이 등(57)이 미나리 추출물을 50mg/kg씩 5일간 mouse에 투여한 경우, 대조군보다 MDA 생성량이 22.6% 감소하였다는 보고보다 훨씬 더 감소한 경향이였다. 한편 hyperoside를 투여한 실험군들(CHB1, CHB2군)은 각각 0.31, 0.26nmole/g으로 CB군(1.30nmole/g)에 비해 TBARS가 75.8%(p<0.01), 80.0%(p<0.001)씩 감소하였다. 또한 hyperoside와 사염화탄소를 투여한 군들은 basal diet만 급이한 대조군과 TBARS가 거의 같거나 약간 감소하는 수준이였다. 이로써 산초메탄을 추출물 및 이에서 분리한 성분인 hyperoside는 *in vitro*상에서 뿐만 아니라(50) 동물실험에서도 지질과산화 억제효과가 있는 것으로 확인되었다.

한편, 혈청의 경우, 산초종피 메탄을 추출물을 첨가한(0.5%, 1.0%) 실험군들(CZMB1, CZMB2)은 각각 0.39, 0.39nmole/g으로 대조군(CB군: 0.68nmole/g)에 비해 TBARS가 42.6%씩 감소하였으며(p<0.01), hyperoside를 투여한 실험군들(CHB1, CHB2군)은 각각 0.46, 0.38 nmole/g으로 CB군(1.30 nmole/g)에 비해 TBARS가 32.4%(p<0.01), 44.1%(p<0.001)씩 감소하였다.

이상에서 Fig. 1~Fig. 4의 결과들을 종합하면 mouse에 산초종피, 산초종피 메탄을 추출물 및 이에서 분리한 성분인 hyperoside를 급이 또는 투여한 후 사염화탄소를 투여할 경우, 이들은 사염화탄소에서 유도되는 free radical( $\cdot$ CCl<sub>3</sub>)(61-63)을 제거함으로써 mouse 조직중의 지질과산화를 억제시키는 것으로 사료된다.

**산초종피 메탄을 추출물 첨가식이 및 hyperoside 투여에 의한 혈청에서의 ALT, AST 활성 변화**

AST, ALT 활성은 간손상의 정도를 예측하는 지표로서 임상실험에서 널리 이용되고 있다. 본 연구에서는 사염화탄소 투여에 의한 간손상 정도를 확인할 목적에서 뿐만 아니라, 산초종피 메탄을 추출물 첨가식 이와 hyperoside 투여가 간손상을 어느 정도 억제할 수 있는가를 예방적 측면에서 확인하고자 하였다.

Basal diet만 급이한 대조군(B군)과 basal diet를 급이하면서 단독 전 2일간 1일 1회 사염화탄소(0.5ml/kg)를 투여한 CB군간의 AST 활성 비교에서(Fig. 5) CB군(33.2Karmen unit/ml)은 B군(1.0Karmen unit/ml)에 비해 AST 활성이 33.2배 증가하였는데(p<0.001), 이는 상기 사염화탄소 투여량이 확실하게 간손상을 초래한

다는 사실을 시사한다.

한편 산초종피 메탄올 추출물 첨가식이(0.5%, 1.0%)를 급이해온 CZMB1(13.3Karmen unit/ml), CZMB2(12.3 Karmen unit/ml)군은 사염화탄소를 투여해도 basal diet만 급이해 오면서 사염화탄소를 투여한 CB군에 비해 AST 활성이 각각 60.3%, 63.4%씩이나 감소하였다 ( $p < 0.001$ ). 이는 이미 급이해온 산초종피 메탄올 추출물이 그후 사염화탄소를 투여해도 이로 인한 간손상을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 시사한다.

유리래디칼 제거효과가 높은 성분인 hyperoside를 10mg/kg, 20mg/kg씩 투여해온 실험군들(CHB1, CHB2군)은 각각 22.2, 23.2Karmen unit/ml로 CB군에 비해 AST 활성이 각각 32.9%, 30.1%씩 감소하였다( $p < 0.05$ ). 이러한 사실은 Fig. 3에서 hyperoside가 산초종피 메탄올 추출물보다 지질과산화 억제효과가 다소 더 높은 경향이었던 사실과는 달랐는데, 이는 일반적으로 항산화 효과가 높은 물질로 잘 알려져 있는 BHT, BHA, dl- $\alpha$ -tocopherol이 사염화탄소(0.3ml/kg) 투여로 인해 증가된 GOT 활성을 원상으로 감소시키는데 거의 효과가 없었다는 보고(64)로 미루어 보아, 과산화지질 억제효과와 AST 활성 감소효과와는 정비례하지는 않는 것 같다.

Fig. 6에서는 Fig. 5에서와 동일한 조건으로 급이한 B군과 CB군간의 ALT 활성 비교에서 CB군(219.1Karmen unit/ml)은 B군(2.8Karmen unit/ml)에 비해 ALT 활성이 79.5배나 더 증가하였다( $p < 0.001$ ). 이는 상기 사염화탄소 투여량이 확실히 간손상을 초래한다는 사실을 시사한다.

한편 산초종피 메탄올 추출물 첨가식을 2주간 급이해 온 실험군들(CZMB1, CZMB2군)은 각각 153.9, 149.2 Karmen unit/ml로 사염화탄소를 투여해도 basal diet만 급이해 오면서 사염화탄소를 투여한 CB군에 비해 ALT 활성이 25.3%, 27.0%씩 더 감소하였다( $p < 0.01$ ). 이로써 산초종피 메탄올 추출물은 사염화탄소에 의한 간손상을 예방시킬 수 있는 물질로 사료된다.

그리고 hyperoside를 2주간 투여해 온 군들(CHB1, CHB2군)은 각각 133.7, 159.0Karmen unit/ml로 CB군에 비해 ALT 활성이 33.3%( $p < 0.001$ ), 22.2%( $p < 0.01$ )씩 더 감소하였다. 이는 鈴木 등(64)이 BHT, BHA 첨가군들은 basal diet만 급이하면서 사염화탄소를 투여한 대조군에 비해 오히려 GPT 활성이 18.5%, 14.4%씩 더 증가하였다는 보고보다는 훨씬 더 감소하였으며, dl- $\alpha$ -tocopherol과 L-ascorbic acid 첨가군들의 경우는 16.6%, 21.2%씩 GPT 활성을 감소시켰다는 보고(64)보다 약간 더 감소하였다. 이러한 결과는 hypero-

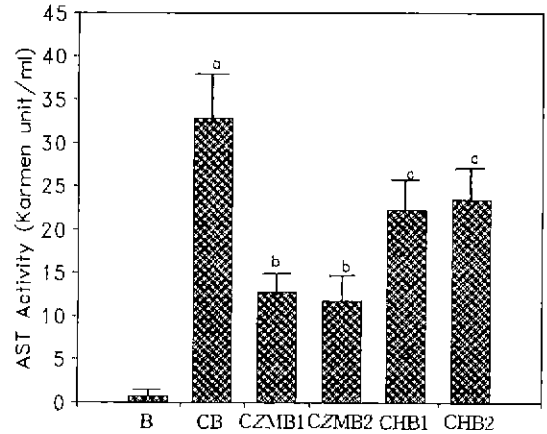


Fig. 5. Effects of methanol extract from the seed coat of *Z. schinifolium* and hyperoside on serum AST activities in CCl<sub>4</sub>-treated mice.

B: Basal diet  
 CB: Basal diet + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CZMB1: Basal diet + *Z. s* MeOH ext.(0.5%) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CZMB2: Basal diet + *Z. s* MeOH ext.(1.0%) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CHB1: Basal diet + Hyperoside(10mg/kg) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CHB2: Basal diet + Hyperoside(20mg/kg) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
<sup>a</sup> $p < 0.001$  compared with control group(B).  
<sup>b</sup> $p < 0.001$ ; <sup>c</sup> $p < 0.05$  compared with CB group

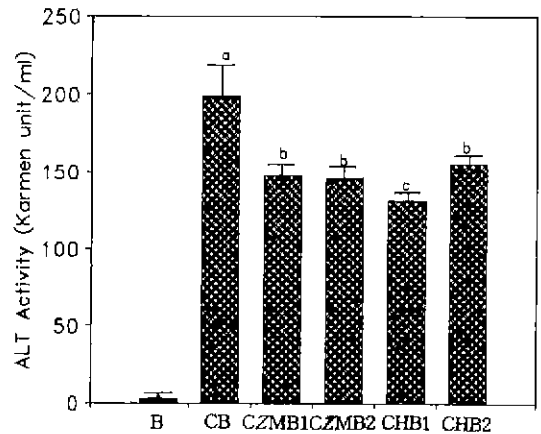


Fig. 6. Effects of methanol extract from the seed coat of *Z. schinifolium* and hyperoside on serum ALT activities in CCl<sub>4</sub>-treated mice.

B: Basal diet  
 CB: Basal diet + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CZMB1: Basal diet + *Z. s* MeOH ext.(0.5%) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CZMB2: Basal diet + *Z. s* MeOH ext.(1.0%) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CHB1: Basal diet + Hyperoside(10mg/kg) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
 CHB2: Basal diet + Hyperoside(20mg/kg) + CCl<sub>4</sub>(0.5ml/kg)  
<sup>a</sup> $p < 0.001$  compared with control group(B).  
<sup>b</sup> $p < 0.01$ ; <sup>c</sup> $p < 0.001$  compared with CB group.

side가 사염화탄소에 의해 유도된 free radical을 제거 함으로써 간손상을 예방할 수 있는 성분임을 시사한다.

그런데, 20mg/kg씩 hyperoside를 투여해 온 군은 10 mg/kg씩 투여해 온 군보다 약간 ALT 활성이 더 높았는데, 이는 조와 이(65)가 rat를 8주간 basal diet에 胡椒 추출물을 0.5%첨가한 식이를 급여한 경우는 대조군과 GPT 활성이 거의 같았으나, 2.0%, 5.0%씩 첨가한 군 들은 GPT 활성이 오히려 11.6%, 17.7%씩 증가하였다는 보고와 Canada 등(66)이 quercetin, myricetin, kaempferol 등 3종류의 flavonoids를 guinea pigs에 450μ M로 투여한 결과 오히려 세포손상을 가져왔다는 보고로 미루어 보아 flavonoids의 일종인 hyperoside의 과 량투여에 의한 것인지, 실험오차에 의한 것인지 정확히 알 수는 없으나 Fig. 5의 결과로 보아 과량투여에서 기인된 것으로 추정된다.

### 요 약

*In vitro*상에서 유리라디칼 제거효과가 높았던 산초 종피, 산초종피 메탄올 추출물 및 이에서 분리한 활성 성분인 hyperoside가 동물 체내에서도 같은 경향을 보 이는가를 밝히기 위해 ICR계(3주령, ♂) mouse에 이 들을 첨가 또는 투여한 후, 사염화탄소를 투여하여, 이 때 이들 첨가물질 및 화합물 각각에 대한 mouse 간조직 및(또는) 혈청의 TBARS와 AST, ALT 활성을 측정하 여 이들의 지질과산화 억제효과 및 간손상 억제효과를 검토하고자 하였다. 간조직에서의 TBARS는 basal diet를 급여한 후 사염화탄소를 투여한 실험군(CB군)은 basal diet만 급여한 대조군(B군)에 비해 유의하게 현 저히 증가하였으나( $p < 0.001$ ), 산초종피 첨가식이(1.25 %, 2.5%, 5.0%)를 급여한 실험군들(CZB1, CZB2, CZB3 군)은 사염화탄소를 투여해도 CB군에 비해 절반 이하로 감소되었고( $p < 0.001$ ), 또한 B군에 대해 그 생성량이 0~20%만 증가할 뿐이었다. 혈청내 TBARS는 산초종 피 첨가식을 급여한 실험군들(CZB1, CZB2, CZB3군)은 사염화탄소를 투여해도, basal diet와 사염화탄소를 투여한 CB군에 비해 절반 이하로 유의적으로 감소되 었다( $p < 0.001$ ). 또한 5.0% 첨가군(CZB3군)은 사염화 탄소 비투여 대조군(B군)과 거의 같은 수준이었다. Mouse 간조직에서의 TBARS 비교실험에서 basal diet와 사염화탄소를 투여한 실험군(CB군)은 대조군(B 군)에 비해 유의하게 현저히 더 증가하였으나( $p < 0.001$ ), 산초종피 메탄올 추출물 첨가식이(0.5%, 1.0%)를 급여 한 실험군들(CZMB1, CZMB2)에서는 사염화탄소를 투 여해도 CB군에 비해 그 생성량이 절반 이하로 유의하

게 감소되었고( $p < 0.01$ ), hyperoside(10mg/kg, 20mg/kg)를 투여해 온 군들(CHB1, CHB2군)에서도 CB군에 비해 그 생성량이 1/3이하로 유의하게 감소되었다( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). Mouse 혈청에서의 TBARS 비교실험 결과, basal diet와 사염화탄소를 투여한 실험군(CB군)은 대 조군(B군)에 비해 유의하게 현저히 더 증가하였으나 ( $p < 0.05$ ), 산초종피 메탄올 추출물 첨가식이(0.5%, 1.0 %)를 급여한 실험군들(CZMB1, CZMB2)에서는 사염 화탄소를 투여해도 CB군에 비해 그 생성량이 유의하 게 감소되었고( $p < 0.01$ ). hyperoside(10mg/kg, 20mg/ kg)를 투여해 온 군들(CHB1, CHB2군)에서도 CB군에 비 해 그 생성량이 유의하게 감소되었다( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). 대조군(B군)과 사염화탄소를 투여한 실험군(CB군)간의 AST 활성 비교실험에서 실험군은 대조군보다 AST 활성이 30배정도 유의하게 더 증가하였다( $p < 0.001$ ). 그 러나, 산초종피 메탄올 추출물 첨가식을 급여해 온 군 들(CZMB1, CZMB2)은 사염화탄소를 투여해도 CB군 에 비해 그 활성이 절반 이하로 감소되었고( $p < 0.001$ ). hyperoside 투여군들(CHB1, CHB2군)은 CB군에 비해 그 활성이 1/3정도씩 감소되었다( $p < 0.05$ ). 대조군(B군)과 사염화탄소를 투여한 실험군(CB군)간의 ALT 활성 비교실험에서 실험군은 대조군(B군)보다 그 활성이 80 배 정도 더 유의하게 증가하였다( $p < 0.001$ ). 산초종피 메탄올 추출물 첨가식이(0.5%, 1.0%)를 급여해 온 군들 (CZMB1, CZMB2)은 사염화탄소를 투여해도 비첨가군 (CB군)에 비해 그 활성이 유의하게 약간씩 감소되었고 ( $p < 0.01$ ). hyperoside 투여군들(10mg/ kg, 20mg/kg)도 비투여군(CB군)에 비해 그 활성이 유의하게 약간씩( $p < 0.01$ )씩 더 감소되었다( $p < 0.001$ ).

### 문 헌

1. Branan, A. S. : Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1**, 59(1975)
2. Maeura, Y., Weisburger, J. H. and Williams, G : Dose-dependent reduction of N-2-fluorenylacetylamine-induced liver cancer and enhancement of bladder cancer in rats by butylated hydroxytoluene *Cancer Res.*, **44**, 1604(1984)
3. Koshiyama, A. T. I. and Fukushima, D. : Antioxidative properties of proeyanidins B-1 and B-3 from AZUKI beans in aqueous systems. *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2717(1988)
4. Cort, W. M. : Antioxidant activity of tocopherols, ascorbyl palmitate, and ascorbic acid and their mode of action. *JAOCS*, **51**, 321(1974)
5. Koskas, J. P., Cillard, J. and Cillard, P. : Autoxidation of linoleic acid and behavior of its hydroperoxides

- with and without tocopherols. *JAOCS*, **61**, 1467(1984)
6. Ishikawa, Y., Morimoto, K. and Hamasaki, T. : Metabolites of *Eurotium* species, their antioxidative properties and synergism with tocopherol. *J. Food Science*, **50**, 1742(1985)
  7. Jung, M. Y. and Min, D. B. : Effects of  $\alpha$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -tocopherols on oxidative stability of soybean oil. *J. Food Sci.*, **55**, 1464(1990)
  8. Jung, M. Y., Choe, E. O. and Min, D. B. :  $\alpha$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -tocopherol effects on chlorophyll photosensitized oxidation of soybean oil. *J. Food Sci.*, **56**, 807(1991)
  9. Nishina, A. : Antioxidant effects of tocopherols and L-ascorbic acid on ethyl eicosapentaenoate and methyl linoleate. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1665(1991)
  10. Gwo, Y. Y. and Flick JR., G. J. : Effect of ascorbyl palmitate on the quality of frying fats for deep frying operations. *JAOCS*, **62**, 1666(1985)
  11. Han, D., Yi, O. S. and Shin, H. K. : Antioxidative effect of ascorbic acid solubilized in oils via reversed micelles. *J. Food Sci.*, **55**, 247(1990)
  12. Fakourelis, N., Lee, E. C. and Min, D. B. : Effects of chlorophyll and  $\beta$ -carotene on the oxidation stability of olive oil. *J. Food Sci.*, **52**, 234(1987)
  13. Terao, J. : Antioxidant activity of  $\beta$ -Carotene-Related Carotenoids in solution. *LIPIDS*, **24**, 657(1989)
  14. Suzuki, N., Kochi, M., Wada, N., Mashike, S., Nomoto, T. and Yoda, B. : Antioxidative activity of amino acids and sulfur-containing compounds to superoxide : Measurement by quenching the chemiluminescence of a *Cypridina Luciferin* analogue. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 409(1992)
  15. Tadolin, B. : Polyamine inhibition of lipoperoxidation. *Biochem. J.*, **249**, 33(1988)
  16. Kohen, R., Yamamoto, Y., Cundy, K. C. and Ames, B. N. : Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 3175(1988)
  17. Christen, S., Peterhans, E. and Stocker, R. : Antioxidant activities of some tryptophan metabolites : Possible implication for inflammatory diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 2506(1990)
  18. Pasquel, L. J. R. and Babbitt, J. K. : Isolation and partial characterization of natural antioxidant from shrimp (*Pandalus jordani*). *J. Food Sci.*, **56**, 143(1991)
  19. Murata, G. K. and Sugimoto, Y. : Studies on antioxidant activity of tempeh oil. *JAOCS*, **51**, 377(1974)
  20. Yang, P. F. and Pratt, D. E. : Anththiamin activity of polyphenolic antioxidants. *J. Food Sci.*, **49**, 489(1984)
  21. Fujimoto, K., Ohmura, H. and Kaneda, T. : Screening for antioxygenic compounds in marine algae and bromophenols as effective principles in a red algae, *Polysiphonia ulceolate*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 1139(1985)
  22. Papadopoulos, G. and Boskou, D. : Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *JAOCS*, **68**, 669(1991)
  23. Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C. : Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols : Structure-activity relationship. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 324(1992)
  24. Haraguchi, H., Hashimoto, K. and Yagi, A. : Antioxidative substances in leaves of *Polygonum hydropiper*. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1349(1992)
  25. Choi, J. S., Lee, J. H., Park, H. J., Kim, H. G., Young, H. S. and Mun, S. I. : Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus davidiana*. *Kor. J. Pharmacogn.*, **24**, 299(1993)
  26. Miura, K. and Nakatani, N. : Antioxidative activity of flavonoids from thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 3043(1989)
  27. Park, C. K. and Kim, D. H. : Relationship between fluorescence and antioxidant activity of ethanol extracts of *Maillard* browning mixture. *JAOCS*, **60**, 98(1983)
  28. Hodge, J. E., Millis, F. D. and Fisher, B. E. : Components of browned flavor derived from sugar-amine reaction. *Cereal Sci. Today*, **17**, 34(1973)
  29. 최홍식, 이정수, 문갑순, 박진영 : 지방산의 산화에 대한 양조간장의 항산화 특성. *한국식품과학회지*, **22**, 322(1990)
  30. 문갑순, 최홍식 : 양조간장으로 부터 항산화성 물질의 분리 및 그 특성. *한국식품과학회지*, **22**, 461(1990)
  31. Cheigh, H. S., Lee, J. S. and Lee, C. Y. : Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 570(1993)
  32. Lingnert, H. and Waller, G. R. : Stability of antioxidants formed from histidine and glucose by the *Maillard* reactions. *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 27(1983)
  33. 유명진 : Amino acid-xylose 갈변 반응물질의 항산화성. 부산수산대학 박사학위논문(1985)
  34. 권미나 : 어유 및 과산화어유를 섭취한 흰쥐에 있어서 플라보노이드 (+)-카테킨의 산화안정효과. 부산수산대학교 석사학위논문(1993)
  35. Sakai, T., Yoshihara, K. and Hirose, Y. : Constituents of fruit oil from Japanese pepper. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **41**, 1915(1968)
  36. 정현숙 : 산초에 관한 연구. *한국영양식품학회지*, **16**, 123(1987)
  37. 심정숙, 정옥희 : 산초지질의 지방산 조성에 관한 연구. 부산여대논문집 제14집, p535(1983)
  38. 김명찬, 조성환, 김희숙, 류중호 : 산초지질성분의 계통적 분석, 정상대논문집(생농계원), **22**, 9(1983)
  39. 강정옥 : 산초나무 종자유와 몇가지 다른 종자유에 있어서의 필수지방산 조성 비교. 동의대학교 동의논집 제12집, 355(1985)
  40. 한희자 : 한국산 초피와 산초의 과피 및 종자의 성분에 관한 연구. 한양대학교 박사학위논문(1988)
  41. 한용도 : 한국산 산초의 지방질 조성에 관한 연구. 경희대학교 석사학위논문(1989)
  42. OKa, Y., KiriYama, S. and Yoshida, A. : Sterol composition of vegetables. *J. Jap. Soc. Food Nutr.*, **26**, 121(1973)
  43. Yoon, H. K. and Kim, C. M. : Analytical studies on the composition of oil and protein in the seed of thornless Chinese pepper *Zanthoxylum schinifolium* var. inermis NAKAL. *Research Reports of Agricultural Science and Technology*, **3**, 170(1976)
  44. 박명희 : 산초의 지방산 조성에 관한 연구. 한사전문대



- 논문집, 6, 725(1981)
45. 故淺野三千三 : 山椒の成分に仁就乙(1). 藥學雜誌, 69, (1949)
  46. 김홍선, 류경수 : 왕초피나무 *Xanthoxylum coreanum* NA-KAL과피의 생약학적 연구(1). 생약학회지, 1, 125(1970)
  47. 相原傳 · 山椒の成分に就乙(5). 藥學雜誌, 71, (1951)
  48. 홍남두, 김창민, 류경수 · 산초류식물의 생약학적 연구. 경희 약대논문집, 3, 13(1975)
  49. 오한균 · 산초 및 산초의 효능에 관한 실험적 연구. 경희대학교 석사학위논문(1988)
  50. Mun, S. I., Ryu, H. S., Lee, H. J. and Choi, J. S. : Further screening for antioxidant activity of vegetable plants and its active principles from *Zanthoxylum schinifolium*. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 23, 466(1994)
  51. American Institute of Nutrition : Ad. Hoc. Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, 107, 1340 (1977)
  52. Ohkawa, H., Ohishi, N and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95, 351(1979)
  53. Reitman, S., and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56(1957)
  54. Karmen, A. · A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxaloacetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, 34, 131(1955)
  55. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. : Principles and procedures of statistics. McGraw-Hill, New York, p 107 (1960)
  56. Nordmann, R., Ribierre, C. and Rouach, H. · Ethanol induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol*, 25, 231(1990)
  57. 이상일, 박용수, 조수열. 미나리추출물이 사염화탄소에 의한 마우스 간손상에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, 22, 392(1993)
  58. 한석현, 김종배, 민상기, 이치호 : 사염화탄소를 투여한 흰쥐에 있어서의 간기능에 미치는 퀘르세틴의 효과. 한국영양식량학회지, 24, 713(1995)
  59. 윤수홍, 강정혜, 권경숙 : 사염화탄소로 인한 간 독성에 미치는 진달래(*Rhododendron mucronulatum*)화분의 영향. 한국영양식량학회지, 18, 363(1989)
  60. 박평삼, 이병래, 이명렬 · 양파식이과 흰쥐에서 사염화탄소 독성에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, 20, 121 (1991)
  61. Reckinagel, R. O. : Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.*, 19, 145(1967)
  62. Maynard, E. H., Bittern, S. and James, R. G. : Effect of 3-methylcholanthrene induction on the CCl<sub>4</sub>-induced changes in rat hepatic microsomal enzyme system. *Biochem. Pharmacol.*, 21, 745(1971)
  63. Wolf, C. R., Willard, G. H. Jr., Wolfgang, M. N., Richard, M. P., Kalyanaraman, P. B. and Roland, P. M. : Metabolism of carbon tetrachloride in hepatic microsomes and deconstituted monooxygenase systems and its relationship to lipid peroxidation. *Mol. Pharmacol.*, 18, 553(1980)
  64. 鈴木 眞, 熊澤紀子, 太田節子, 鴨川 旭, 條田雅人 : 抗酸化物質の實驗的肝腸害防護效果. 藥學雜誌, 110, 697(1990)
  65. 조수열, 이숙화 : 후추가 배서의 혈청 및 간장성분에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, 12, 219(1983)
  66. Canada, A. T., Watkins, W. D. and Nguyen, T. D. : The toxicity of flavonoids to guinea pig enterocytes. *Toxicology Applied Pharmacology*, 99, 357(1989)

(1997년 7월 9일 접수)