

산초 (*Zanthoxylum Schinifolium*) 뿌리, 줄기 및 잎 추출물의 항산화, DPPH Radical 소거 작용 및 항혈전 효과

장미진* · 우미희** · 김영호*** · 전도연*** · 이순재*§

대구가톨릭대학교 식품영양학과, * 약학과, ** 경북대학교 미생물학과***

Effects of Antioxidative, DPPH Radical Scavenging Activity and Antithrombogenic by the Extract of Sancho (*Zanthoxylum Schinifolium*)

Jang, Mi Jin * · Woo, Mi Hee ** · Kim, Young Ho *** · Jun, Do Youn *** · Rhee, Soon Jae *§

Department of Food Science and Nutrition, * Pharmacy, ** Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

Department of Microbiology, *** Gyongbuk National University, Daegu 702-701, Korea

ABSTRACT

Effects of root, stem and leaf extract of sancho (*Zanthoxylum schinifolium*) on the inhibition of lipid peroxidation in the hepatic microsome of rat, DPPH radical scavenging activity and activated partial thromboplastin times (APTT) were examined *in vitro*. The highest inhibition of hepatic microsomal lipid peroxidation was observed by ethyl acetate fraction than that of methylene chloride fraction of the root and stem extracts. The high inhibition of lipid peroxidation was determined in the leaf, the root and the stem in order. The DPPH radical scavenging activity of ethyl acetate fraction was higher than that of *n*-butanol fraction and it was similar to the root and the steam extract. It was similar to the inhibition of hepatic microsomal lipid peroxidation. The DPPH radical scavenging activity was the highest in 2.500 mg/mL of ethyl acetate fraction and it was 4.4 fold higher than that of α -tocopherol, as an antioxidant standard. The DPPH radical scavenging activity was dependent on the extract concentration in the range of 0.125 – 5.000 mg/mL. The thromboplastin times were higher than that of *n*-butanol fraction and it was similar to the root and the steam extracts. The leaf extract showed the highest antithrombogenic effect followed by the stem and then the root extract. The activated partial thromboplastin times were dependent on the extract concentration in the range of 0.100 – 2.000 mg/mL. Consequently, the effects of antioxidative, DPPH radical scavenging activity and antithrombogenic of *Z. schinifolium* was observed due to the inhibition of lipid peroxidation and the DPPH radical scavenging activity by methylene chloride, *n*-butanol and ethyl acetate fraction of the leaf extract. (*Korean J Nutrition* 38(5) : 386~394, 2005)

KEY WORDS : sancho, *zanthoxylum schinifolium*, lipid peroxidation, DPPH radical scavenging activity, activated partial thromboplastin time.

서 론

산초 (*Zanthoxylum schinifolium*)는 운향과 (Rutaceae)에 속하는 방향성 식물자원으로 우리나라의 중부이남, 중국 및 일본 등에 널리 자생한다. 산초나무의 높이는 3 m 정도이고 9월에 연한 녹색의 꽃이 피고 열매가 성숙되는데 *Zanthoxylum* 속 과실로서 신농본초경 (神農本草經)의 하품 (下

品)에는 촉초 (蜀椒), 중품 (中品)에는 진초 (秦椒)라는 이름으로 수재되어있다.^{1,2)}

산초는 신진대사 향진, 식욕증진, 복통 및 이뇨증상에 효과가 있을 뿐만 아니라 감기, 설사, 황달, 편두염 및 중풍 예방의 약재로 사용 된다.²⁻⁴⁾ 산초를 비롯한 천연식품에 함유되어 있는 quercetin, phenol 류, flavone 유도체 및 tocopherol과 같은 다양한 항산화 물질들은 지방의 산화를 지연시키고 암 및 심혈관계 질환 등을 예방하며 노화방지도 중요한 역할을 한다는 보고도 있으며 산초의 활성성분인 quercetin-3-O- β -D-galactopyranoside (hyperoside)는 불포화지방산의 과산화를 억제하여 어류 특유의 비린내를 제거하는 효과가 있다고 알려져 있다.⁵⁾

접수일 : 2005년 4월 14일

채택일 : 2005년 6월 15일

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail : sjrhee@cu.ac.kr

생체막 구성성분인 인지질의 불포화지방산은 활성 산소종과 같은 free radical에 의해 과산화 반응이 개시되며 또한 연쇄적으로 진행되는데 Free radical에 의한 과산화 반응은 세포막의 투과성을 증가시킬 뿐만 아니라 전반적인 세포독성을 초래하여 노화 현상이나 이에 따른 여러 가지 질환의 병리현상을 유도함으로써 발암 과정에도 관여 한다.^{1,5)} Mun 등⁶⁾은 즉석 추어탕용 냉동 건조미꾸라지의 저장성 연구에서 산초의 에탄올 추출물이 미꾸라지 육종의 지질 산화를 억제하였다고 하였다.

과거에는 BHT (butylated hydroxytoluene) 및 BHA (butylated hydroxyanisole)와 같은 페놀계 합성 항산화제는 항산화 효과와 경제성이 뛰어나기 때문에 식품에 널리 사용되어 왔으나 이들의 인체에 대한 독성과 발암성이 보고⁷⁻⁹⁾된 이후로 사용이 점점 기피되고 있는 실정이다. 따라서 천연 자원으로부터 합성 항산화제로 대체할 수 있으면서 안전하고 경제적인 천연 항산화제인 tocopherol,^{10,11)} L-ascorbic acid,¹²⁻¹⁶⁾ carotenoids,¹⁷⁻¹⁹⁾ 함황아미노산 및 아미노산 유도체,²⁰⁻²³⁾ 페놀성화합물,²⁴⁻²⁷⁾ 갈변 반응물질,²⁸⁻³¹⁾ 인지질³²⁻³⁵⁾ 등을 이용한 많은 연구가 진행되고 있는 실정이다.

이에 본 연구에서는 산초를 이용한 식품학적 연구와 약리학적 연구³⁶⁻⁴⁰⁾를 바탕으로 하여 산초의 뿌리, 줄기 및 잎의 Methanol, Methylene chloride, Ethyl acetate, *n*-Butanol 및 H₂O 추출물 및 수층침전 등의 다양한 추출물을 얻어 1.000 mg/mL의 농도에서 흰쥐 간 microsome을 이용한 지질과산화 억제효과, DPPH radical 소거 작용 및 항혈전 작용을 *in vitro*에서 관찰하고 그 중 유의적으로 높은 활성을 나타낸 물질들을 선별하여 1.000 mg/mL 내외의 농도에서 관찰함으로써 산초 뿌리, 줄기 및 잎의 추출물의 우수한 생리적 작용을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 산초의 준비

산초나무의 뿌리 및 줄기는 2004년 6월 경상북도 팔공산에서 채취하여 건조·세절하여 실험재료로 사용하였다. 산초나무 잎은 2004년 6월 중순에 경북 경산시 자인면 소재 동아임장에서 구입하여 동결건조 후 가루로 한 다음 실험재료로 사용하였다.

2. 산초 뿌리 및 줄기의 추출 및 분획과정

산초 뿌리 및 줄기를 80°C에서 10% methanol (18 L × 3회, 1회에 10시간씩 추출)로 추출하여 그 추출액을 Rotary Vacuum Evaporator로 농축하여 메탄올 농축액을 얻었다.

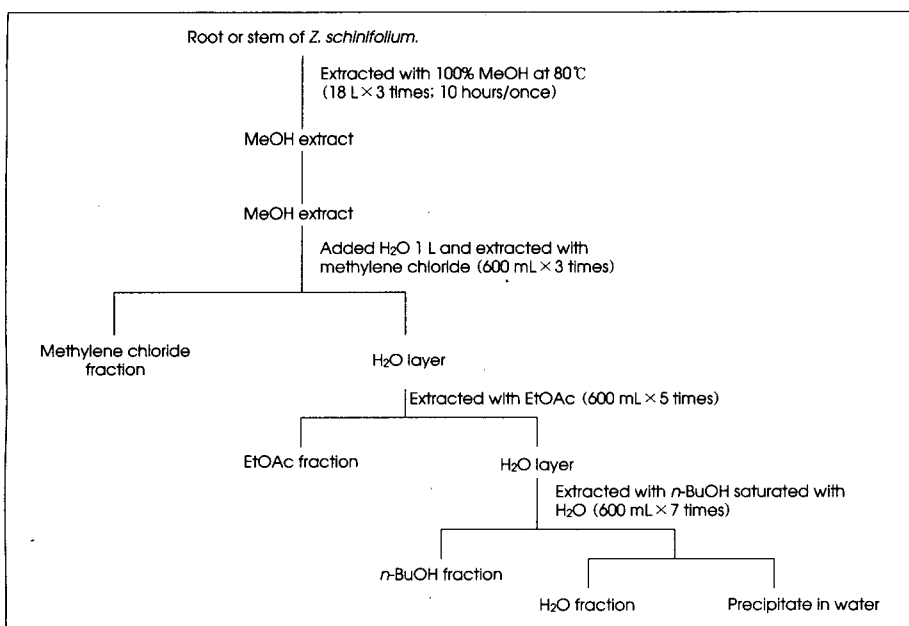
활성측정용으로 메탄올 농축액 일부를 남기고 나머지를 물 1000 mL에 녹여서 methylene chloride (600 mL × 3회)로 추출한 후 methylene chloride 층을 농축하여 methylene chloride 분획을 얻었다. 수층은 ethyl acetate (600 mL × 3회)로 추출하고 추출액을 농축하여 ethyl acetate 분획을 얻었다. 이어서 수층을 *n*-butanol (600 mL × 8회)로 추출하여, *n*-butanol층을 농축하여 *n*-butanol 분획을 얻었으며, 나머지 수층에는 침전이 있었으므로 침전을 여과하여 자연 건조시켜 수층침전을 얻었으며, 수층은 농축하여 수층분획을 얻었다 (Scheme 1).

3. 산초 잎의 추출 및 분획과정

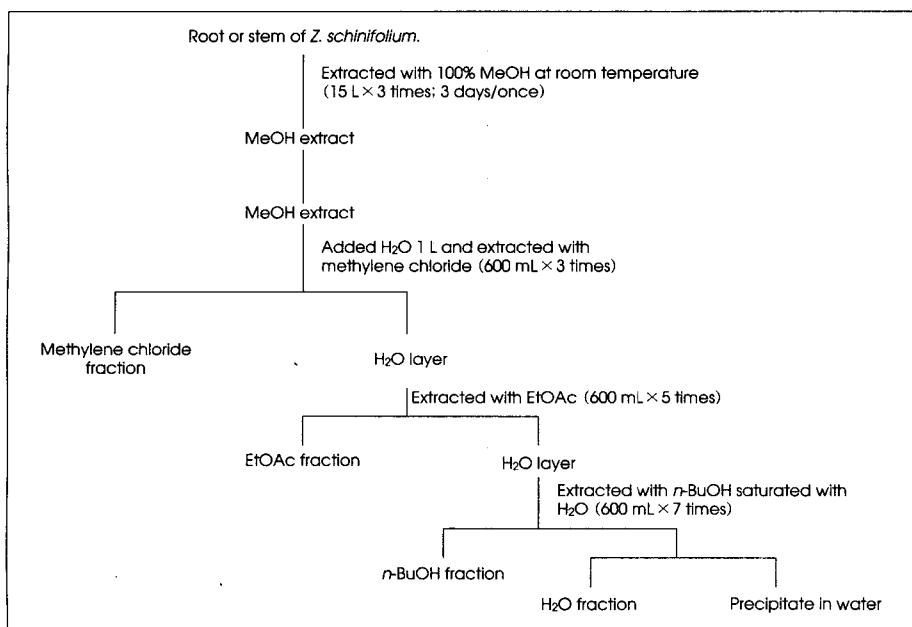
산초 잎을 상온에서 80% methanol (15 L × 3회, 1회에 72시간씩 추출)로 추출하여 그 추출액을 Rotary Vacuum Evaporator로 농축하여 메탄올 농축액을 얻었다. 활성측정용으로 일부를 남기고 나머지 농축액을 취하여 물 1000 mL에 녹여서 methylene chloride (600 mL × 3회)로 추출하여, methylene chloride 층을 농축하여 methylene chloride 분획을 얻었다. 이어서 수층을 ethyl acetate (600 mL × 5회)로 추출하고 추출액을 농축하여 ethyl acetate 분획을 얻었다. 수층은 *n*-butanol (600 mL × 7회)로 추출하여 *n*-butanol층을 농축하여 *n*-butanol 분획을 얻었다. 나머지 수층에는 침전이 있었으므로 침전을 여과하여 자연 건조시켜 수층침전을 얻었고 수층은 농축하여 수층분획을 얻었다 (Scheme 2).

4. 간 Microsome에서의 지질과산화 억제 효과

Sprague-Dawley 중 수컷으로부터 간 microsome 분획을 Slater의 방법⁴¹⁾으로 분리하여 사용하였으며, FeSO₄ · 7H₂O/L-ascorbic acid⁴²⁾에 의해 유도된 쥐 간 microsome의 지질과산화도를 Ohkawa 등의 방법⁴³⁾으로 측정하였다. 즉 쥐 간 microsome (2 mL/mg, 0.1 mL), 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5, 1.5 mL)와 각 시료(0.2 mL)를 함유한 반응액에 5 mM FeSO₄ · 7H₂O와 0.1 mM L-ascorbic acid를 각각 0.1 mL 가하여 37°C에서 60분간 반응시켜 microsome의 지질과산화를 유도하였으며, 이 혼합액에 3.0 M TCA-2.5 N HCl 0.5 mL를 가하고 원심분리 (3,000 rpm)하여 얻은 상등액을 1 mL 취하여 여기에 0.67% TBA 수용액 1 mL를 가하고 마개를 하여 100°C에서 30 min 간 가열시킨 후 얼음물에서 냉각하고 이를 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 지질과산화 저해율은 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 시료 첨가군의 활성을 백분율로 나타내었으며 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.



Scheme 1. Method of extraction of root or stem of *Z. schinifolium*.



Scheme 2. Method of extraction of leaf of *Z. schinifolium*.

5. DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radical scavenging effect

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl)의 환원에 의한 free radical 소거활성을 관찰하기 위한 DPPH 소거활성은 Tagashira와 Ohtake의 방법⁴⁰⁾으로 측정하였다. 시료 200 μ L를 ethanol에 녹여 100 μ M DPPH ethanol solution 4 mL를 혼합하여 상온에서 10분 동안 반응 시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도에 대한 sample의 흡광도의 감소를 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 백분율 (%)로 나타내었다.

6. Activated partial thromboplastin times

각 부위별, 분획별 시료의 항혈전 작용은 Thompson 등의 방법⁴⁰⁾에 따라 측정하였다. Activated partial thromboplastin time (APTT) 측정은 APTT reagent (Sigma Diagnostics, No. A1801/A1926)를 사용하였다. Citrated plasma 0.1 mL, APTT reagent 0.1 mL 및 sample 0.05 mL를 취하여 sample cup에 넣고 정확히 6분간 37°C에서 반응시켰다. 여기에 37°C로 데워진 35 mM CaCl₂ 용액 0.1 mL를 넣고 Amelung Kcia micro (Sigma Diagnostics)를 사용하여 응고시간을 측정하였다.

Table 1. Effects of root, stem and leaf extracts and fractions of *Zanthoxylum schinifolium* on the inhibition of hepatic microsomal lipid peroxidation (%) on the concentration of 1.000 mg/mL

Extracts and fractions	Parts	Lipid peroxidation inhibition (%)		
	Root	Stem	Leaf	
Methanol extract	91.7 ± 4.8 ^o	95.5 ± 3.0 ^o	86.6 ± 1.3 ^c	
Methylene chloride fraction	94.3 ± 0.6 ^o	93.3 ± 1.1 ^o	93.3 ± 3.4 ^o	
Ethyl acetate fraction	96.5 ± 4.0 ^o	94.9 ± 0.5 ^o	101.2 ± 0.8 ^o	
<i>n</i> -Butanol fraction	15.4 ± 1.8 ^c	16.3 ± 4.1 ^c	92.4 ± 0.1 ^o	
H ₂ O fraction	4.6 ± 2.8 ^d	13.0 ± 1.5 ^c	35.4 ± 3.0 ^d	
Precipitate in water	27.1 ± 4.4 ^b	35.7 ± 0.3 ^b	85.1 ± 2.3 ^c	

All values are mean ± SE (n = 3)
 Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test
 The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. schinifolium* are same as scheme 1 and 2

결과 및 고찰

1. 간 Microsome에서 지질과산화 억제 활성

노화나 성인병의 예방효과를 검정하기 위해 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 부위별 및 분획별 추출물을 이용하여 흰 쥐 간 microsome의 지질과산화 억제 활성을 1.000 mg/mL 농도에서 우선적으로 측정된 결과는 Table 1과 같다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 활성을 검색한 결과 산초나무 추출물의 DPPH radical 소거 활성은 뿌리, 줄기 및 잎 모두 ethyl acetate층 > methylene chloride층의 순으로 활성이 나왔으며, 부위별 지질과산화 억제 활성을 비교한 결과 잎 > 줄기 > 뿌리의 순으로 활성이 높게 나타났다. 결론적으로 산초나무는 높은 지질과산화 억제 효과가 있으며, 특히 산초나무 잎의 ethyl acetate층에서 가장 높은 효과를 나타낼 수 있었다. Mun 등⁴⁶⁾의 연구에서 산초 추출물은 사염화탄소를 투여한 마우스 간조직의 지질과산화 정도를 절반 이상 감소시켰다는 보고가 있으며 Mun⁴⁷⁾의 연구에서도 산초는 혈청 지질성분을 저하시키는 효과가 있다고 하였다. 따라서 산초에 지질과산화 억제효과가 우수한 성분이 함유되어 있음을 추정할 수 있다.

1.000 mg/mL 농도에서 지질과산화 억제활성이 높은 물질로 선별된 산초나무 뿌리, 줄기 및 잎의 methanol, methylene chloride 및 ethyl acetate 층과 잎의 *n*-butanol 층에 대해 활성의 변화가 나타난 0.050~1.000 mg/mL의 농도에서 지질과산화 억제활성을 비교하였다. 그 결과 0.050~0.250 mg/mL까지 농도 의존적으로 지질과산화 억제활성이 증가하였다 (Fig. 1). 그리고 지질과산화 억제활성의 차이가 가장 큰 0.050 mg/mL 농도에서 선별된 물질의 지질과산화 억제활성을 관찰한 결과 산초나무 잎의 ethyl acetate층 methylene chloride층 및 *n*-butanol층에서 높았으며, 특히 ethyl acetate층의 지질과산화 억제 활성은 항산

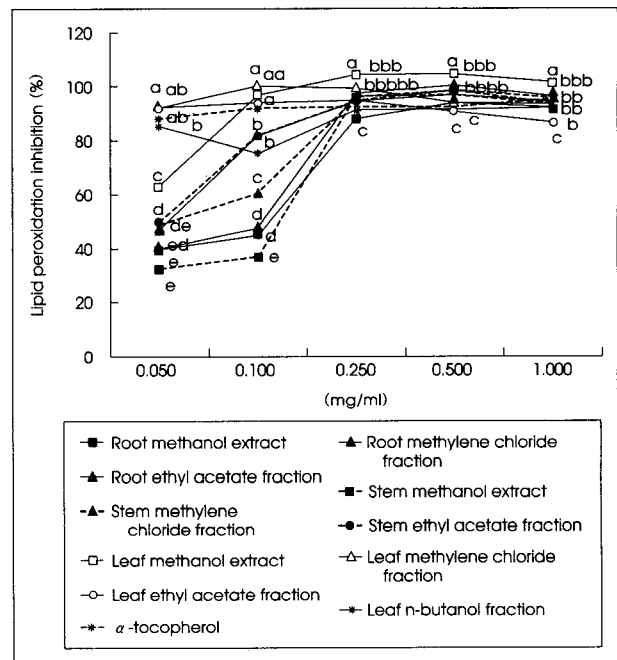


Fig. 1. Inhibition of hepatic microsomal lipid peroxidation (%) of the extracts and fractions on the concentration in the range of 0.050 – 1.000 mg/mL. Different small superscripts in the same column indicate significant difference at p < 0.05 by Tukey's test. Different capital superscripts in the same row indicate significant difference at p < 0.05 by Tukey's test. The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. schinifolium* are same as scheme 1 and 2.

화의 표준물질이 되는 α -tocopherol의 활성과 비교하여 검색한 결과 약 1.05배 더 높았다 (Fig. 2).

2. DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radical scavenging effect

DPPH에 의해 생성된 라디칼 소거 활성을 통하여 항산화 활성을 1.000 mg/mL 농도에서 우선적으로 검색한 결과 Table 2와 같다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 활성을 검색한 결과 산초나무 추출물의 DPPH radical 소거 활성은 뿌리, 줄기 및 잎 모두 ethyl acetate층 > *n*-butanol층의 순으로 활성이 높았다. 부위별 DPPH radical 소거 활성을

비교한 결과 잎 > 줄기 > 뿌리의 순으로 지질과산화 억제활성과 같은 경향을 나타내었다. Mun 등⁵⁾에 따르면 산초 종자의 추출물에서 DPPH radical 소거 활성성분인 quercitrin과 hyperoside가 분리되었는데 이들은 L-ascorbic acid보다 항산화 효과가 다소 높았다고 보고하였다.

1.000 mg/mL농도에서 DPPH radical 소거 작용이 높은 물질로 선별된 산초나무 뿌리, 줄기 및 잎의 methanol, methylene chloride 및 ethyl acetate 층과 잎의 n-butanol 층에 대해 활성의 변화가 나타난 0.125~40.000 mg/mL의 농도에서 DPPH radical 소거 작용을 비교하였다. 그 결과 산초나무 뿌리, 줄기 및 잎 모두 0.125~5.000 mg/mL에서 농도 의존적으로 증가하였다 (Fig. 3). 그 중 잎의 ethyl acetate층이 다른 부위의 분획물보다 DPPH radical 소거활성이 높았다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물 중 가장 DPPH radical 소거 활성이 높은 ethyl acetate층 및 잎의

n-butanol층에 대해 0.500 mg/mL 농도에서 관찰한 결과 항산화 물질의 지표가 되는 α-tocopherol보다 각각 2.4배 및 1.7배의 효과를 나타내어 산초나무 잎의 ethyl acetate 층 및 n-butanol층의 높은 DPPH radical 소거활성을 관찰할 수 있었다 (Fig. 4).

3. Activated partial thromboplastin times

산초나무의 항응고제로서의 가능성을 알아보고자 1.000 mg/mL농도에서 1차 screening 한 결과는 Table 3과 같다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 항응고 활성을 관찰한 결과 잎의 경우에는 n-butanol층 > methylene chloride층 > 수층 > methanol층의 순으로 APTT 활성이 높았으며, 이는 뿌리 및 줄기에서도 같은 경향으로 확인되었다. 부위별 APTT 활성을 비교했을 때 잎 > 줄기 > 뿌리의 순으로 응고 시간이 지연되었다. 산초나무 추출물의 항응고 활성은 n-butanol

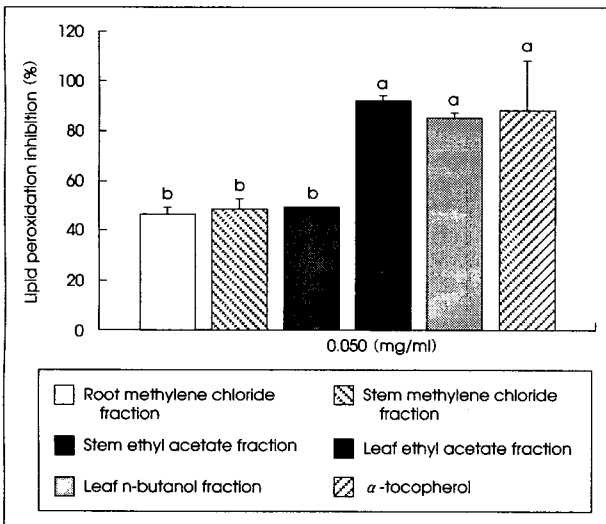


Fig. 2. Inhibition of hepatic microsomal lipid peroxidation (%) of the extracts and fractions on the concentration of 0.050 mg/mL. Bars within different letters are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test. The method of extraction of root, stem and leaf of Z. schinifolium are same as scheme 1 and 2.

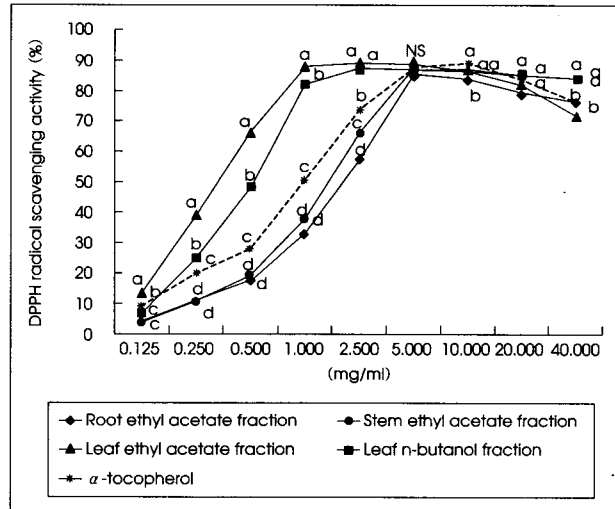


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity (%) of the extracts and fractions on the concentration in the range of 0.125 – 5.000 mg/mL. Different small superscripts in the same column indicate significant difference at p < 0.05 by Tukey's test. Different capital superscripts in the same row indicate significantly different at p < 0.05 by Tukey's test. The method of extraction of root, stem and leaf of Z. schinifolium are same as scheme 1 and 2.

Table 2. Effects of root, stem and leaf extracts and fractions of Zanthoxylum schinifolium on the DPPH radical scavenging activity (%) on the concentration of 1.000 mg/mL

Extracts and fractions	Parts	Root	Stem	Leaf
	DPPH radical scavenging activity (%)			
Methanol extract		11.3 ± 1.2 ^b	14.3 ± 1.7 ^c	46.9 ± 0.5 ^d
Methylene chloride fraction		13.5 ± 1.5 ^b	13.8 ± 2.2 ^c	15.9 ± 1.4 ^d
Ethyl acetate fraction		32.6 ± 2.2 ^a	37.4 ± 2.9 ^a	87.8 ± 1.2 ^a
n-Butanol fraction		14.7 ± 2.2 ^b	25.1 ± 2.7 ^b	81.9 ± 4.5 ^a
H ₂ O fraction		2.6 ± 1.6 ^c	4.7 ± 1.0 ^d	30.8 ± 2.7 ^c
Precipitate in water		-36.4 ± 2.2 ^d	-29.2 ± 4.9 ^e	54.4 ± 6.7 ^b

All values are mean ± SE (n = 3)

Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test

The method of extraction of root, stem and leaf of Z. schinifolium are same as scheme 1 and 2

층에서 높은 활성을 나타내었으며 그 중에서도 잎의 *n*-butanol층의 활성이 가장 높았다.

1.000 mg/mL농도에서 항응고 활성이 높은 물질로 선별된 산초나무 뿌리, 줄기 및 잎의 methanol, methylene chloride 및 ethyl acetate 층과 잎의 *n*-butanol 층에 대해 활성의 변화가 나타난 0.100~2.000 mg/mL의 농도에서 APTT를 비교하였다. 그 결과 산초나무 뿌리, 줄기 및 잎 모두 0.100~0.500 mg/mL 농도까지 농도 의존적으로 증가하였다 (Fig. 5). 그 중 줄기의 *n*-butanol층에서 다른 부위의 분획물보다 항응고 활성이 높았다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물 중 가장 항응고 활성이 높은 분획물에 대해 가장 낮은 농도인 0.100 mg/mL 농도에서 관찰하였다. 그 결과 항응고 활성은 잎의 *n*-butanol층에서 높은 활성을 나타내었다 (Fig. 6).

따라서 산초나무 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물 중에서 잎의

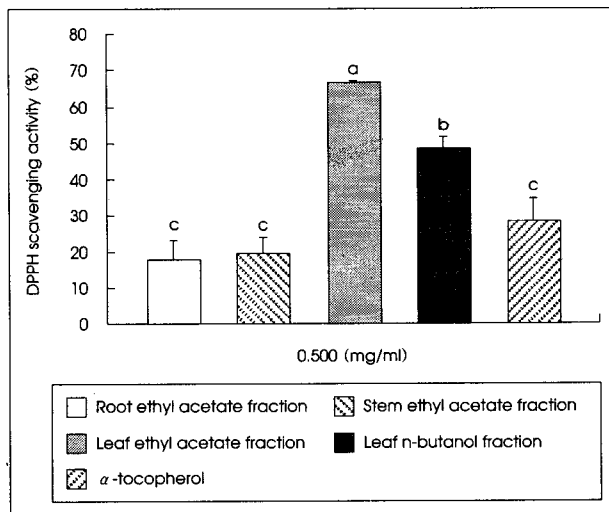


Fig. 4. DPPH radical scavenging activity (%) of the extracts and fractions on the concentration of 0.500 mg/mL. Bars within different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. schinifolium* are same as scheme 1 and 2.

ethyl acetate층이 지질과산화 억제효과 및 DPPH radical 소거 작용이 가장 높았으며, APTT의 측정의 경우 산초나무 뿌리의 *n*-butanol층에서 가장 높게 나타났다. 이상의 결과로부터 산초나무의 항산화 및 항응고의 생리적 작용을 검증할 수 있었다.

요약 및 결론

본 연구에서는 산초의 생리활성 물질⁴⁸⁾로서의 작용을 알아보하고자 산초 뿌리, 줄기 및 잎의 부위별 및 분획물을 이용하여 흰쥐 간 microsome의 지질과산화 억제 작용, DPPH radical 소거작용 및 activated partial thromboplastin times (APTT)을 관찰하였다.

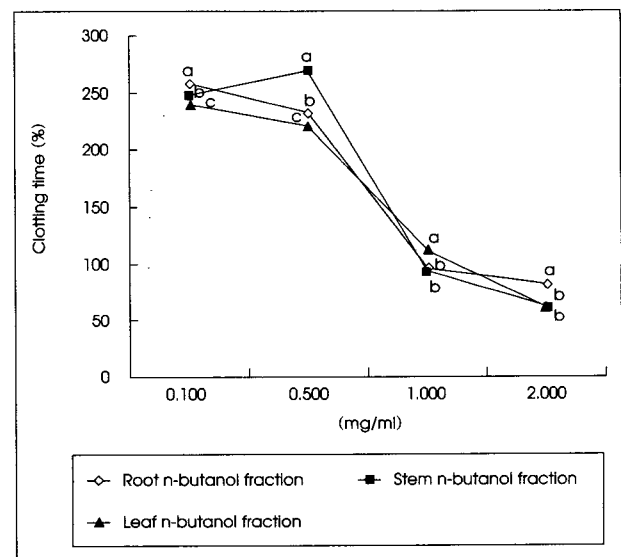


Fig. 5. Activated partial thromboplastin times (%) of the extracts and fractions on the concentration in the range of 0.100 – 2.000 mg/mL. Different small superscripts in the same column indicate significant difference at $p < 0.05$ by Tukey's test. Different capital superscripts in the same row indicate significant difference at $p < 0.05$ by Tukey's test. The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. schinifolium* are same as scheme 1 and 2.

Table 3. Effects of root, stem and leaf extracts and fractions of *Zanthoxylum schinifolium* on the activated partial thromboplastin times (%) on the concentration of 1.000 mg/mL

Extracts and fractions	Parts	Root	Stem	Leaf
	Activated partial thromboplastin times (%)			
Methanol extract		66.7 ± 4.5 ^b	69.9 ± 0.1 ^b	96.5 ± 0.5 ^b
Methylene chloride fraction		77.4 ± 6.3 ^{ab}	88.6 ± 6.1 ^a	110.2 ± 0.6 ^a
Ethyl acetate fraction		56.5 ± 1.9 ^c	61.5 ± 4.7 ^c	87.3 ± 1.8 ^c
<i>n</i> -Butanol fraction		92.1 ± 7.3 ^a	93.3 ± 6.5 ^a	111.1 ± 0.3 ^a
H ₂ O fraction		88.6 ± 6.2 ^a	69.3 ± 3.2 ^b	103.9 ± 0.0 ^a
Precipitate in water		50.5 ± 2.8 ^c	73.5 ± 7.5 ^{ab}	74.9 ± 0.4 ^d

All values are mean ± SE (n = 3)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test

The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. schinifolium* are same as scheme 1 and 2

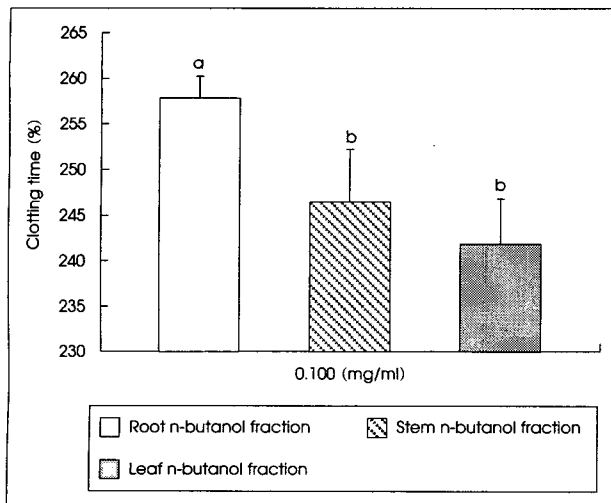


Fig. 6. Activated partial thromboplastin times (%) of the extracts and fractions on the concentration of 0.100 mg/mL. Bars within different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. schinifolium* are same as scheme 1 and 2.

산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 분획별 추출물의 지질과산화 억제작용을 1.000 mg/mL의 농도에서 관찰한 결과 뿌리, 줄기 및 잎 모두 ethyl acetate층 > methylene chloride층의 순으로 활성이 높았으며, 부위별 지질과산화 억제 활성은 잎 > 줄기 > 뿌리의 순으로 활성이 높게 나타났다.

산초 추출물의 분획별 DPPH radical 소거 활성은 잎에서는 ethyl acetate층 > n-butanol층의 순으로 활성이 높았으며, 뿌리 및 줄기는 잎과 같은 경향이였다. 산초 부위별 DPPH radical 소거 활성을 비교한 결과 잎 > 줄기 > 뿌리의 순으로 활성이 측정되었다.

산초 추출물의 분획별 APTT 활성을 1.000 mg/mL의 농도에서 관찰한 결과 뿌리, 줄기 및 잎 모두 n-butanol층 > methylene chloride층의 순으로 높은 저해 활성을 나타내었다. 산초나무 추출물의 부위별 APTT 활성은 잎 > 줄기 > 뿌리의 순으로 높았다. 각 부위별 모두 n-butanol 층에서 높은 항응고 시간을 나타내었다.

따라서 산초추출물의 지질과산화 억제작용은 잎의 ethyl acetate층 및 methylene chloride층에서 전반적으로 높은 활성을 나타내어 산초나무 잎의 항산화 효과를 규명할 수 있었으며, DPPH radical 소거 작용은 지질과산화 억제 작용과 같은 경향이였다. 또, 항응고 활성은 산초나무 잎의 n-butanol층에서 가장 높았다.

선별된 우수 생리활성 분획물의 항산화, DPPH free radical 소거 작용 및 항혈전 효과를 관찰한 결과는 다음과 같다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 농도별 지질과산화 억제활성을 측정된 결과 0.050~0.250 mg/mL까지 농도 의존적

으로 지질과산화 억제 활성이 증가하였다. 부위별로는 잎에서 가장 강한 지질과산화 억제활성이 확인되었다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎에서 지질과산화 억제활성의 차이가 큰 0.050 mg/mL 농도에서의 지질과산화 억제활성을 검색한 결과 산초나무 잎의 ethyl acetate층의 활성이 가장 높았으며, 이는 항산화의 표준물질이 되는 α -tocopherol보다 높은 활성을 나타내었다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 DPPH radical 소거 활성을 농도별로 검색한 결과 0.125~5.000 mg/mL까지 모두 농도 의존적으로 증가하였다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물의 DPPH radical 소거 활성을 0.500 mg/mL 농도에서 검색한 결과 산초나무 잎의 ethyl acetate층이 산초나무 뿌리 및 줄기보다 DPPH radical 소거 활성이 약 2.5~3.5배 정도 높았으며, 이는 항산화의 표준물질이 되는 α -tocopherol보다 높은 활성을 나타내었다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물의 농도별 APTT를 측정된 결과 1.000 mg/mL 농도에서는 잎의 반응 시간이 가장 지연되었으나, 0.100~0.500 mg/mL 농도에서는 줄기 n-butanol 층의 반응 시간이 가장 지연되었다. 산초나무의 뿌리, 줄기 및 잎 분획물의 APTT를 0.100 mg/mL 농도에서 검색한 결과 뿌리의 n-butanol층의 활성이 가장 높았다.

Literature cited

- 1) Lee HY, An RB, Na MK, Park JY, Lee KS, Kim YH, Bae KH. Quality evaluation of *Zanthoxyli Fructus*. *Korean J Pharmacogn* 33(1): 45-48, 2002
- 2) Kim JH. Variation of the leaf monoterpenes concentration of *Zanthoxylum schinifolium* at Mt. Muhak. *J Basic Sci* 18: 137-149, 2003
- 3) Lee MS, Chung MS. Analysis of volatile flavor components from *Zanthoxylum schinifolium* and sensory evaluation as natural spice. *Korean J Soc Food Sci* 16(3): 216-220, 2000
- 4) Lim SJ, Han HK, Ko JH. Effects of edible and medicinal plants intake on blood glucose, glycogen and protein levels in streptozotocin induced diabetic rats. *Korean J Nutrition* 36(10): 981-989, 2003
- 5) Mun SI, Ryu HS, Lee HJ, Choi JS. Further screening for antioxidant activity of vegetable plants and its active principles from *Zanthoxylum achinifolium*. *J Korean Soc Food Nutr* 23(3): 466-471, 1994
- 6) Mun SI, Lee SJ, Ryu HS, Moon GS. Storage stability of freeze dried loach for instant Choo-o-tang. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28(1): 153-160, 1999
- 7) Kim HK, Kwon YJ, Kim YE, Nahmgang B. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Aster scaber* thub extracts with different microwave assisted extraction conditions. *Korean J Food Preservation* 11(1): 88-93, 2004

- 8) Huong DTL, Dat NT, Cai XF, Shen GH, Bae KH, Kim YH. Phenolic components from the leaves and twigs of *Rhamnus taquetii*. *Korean J Pharmacogn* 35 (2) : 139-142, 2004
- 9) Kim TK, Shin HD, Lee YH. Stabilization of polyphenolic antioxidants using inclusion complexation with cyclodextrin and their utilization as the fresh-food preservative. *Korean J Food Sci Technol* 35 (2) : 266-271, 2003
- 10) Park KY, Kang CS, Lee YS, Lee YH, Lee YS. Tocotrienol and tocopherol content in various plant seeds. *Korean J Crop Sci* 49 (3) : 207-210, 2004
- 11) Cha WS, Shin HR, Park JH, Oh SL, Lee WY, Chun SS, Choo TW, Cho YJ. Antioxidant activity of phenol compounds from Mulberry fruits. *Korean J Food Preservation* 11 (3) : 383-387, 2004
- 12) Chung HJ. Effects of basil and majoram essential oils with or without ascorbic acid on color and oxidative and microbial stability of beef patties. *J Food Sci Nutr* 9: 1-6, 2004
- 13) Lee KH. Effects of ascorbic acid in skim milk during light storage. *Food Engineering Progress* 6 (3) : 256-262, 2002
- 14) Kim MO. Formation of superoxide anion in the autoxidation of L-ascorbic acid in the presence of heavy metal ions. *Korean J Food Sci Technol* 33 (3) : 378-383, 2001
- 15) Cho JY, Kim AR, Yeon JD, Lim SW, Lee JH, Yoo ES, Yu YH, Park MH. Effects of combined preparation (DWP715) containing Alaska pollack extract, maltol, ascorbic acid and nicotinamide on decreasing of blood alcohol concentration, anti-fraque and anti-oxidation. *Korean J Food Sci Technol* 29 (1) : 167-172, 1997
- 16) Park WH, Yoon HS. Changes in MDA and ascorbic acid contents and SOD activity in paraquat-treated Spinach leaf discs under light. *Environmental Sci* 1 (2) : 87-91, 1997
- 17) Kim JD, Kang DS, Kim MY, Roh SB, Choi MR, Song SH, Baek SH, Seo HJ, Kim DH, Kong JY. Production of carotenoid from halophilic *Erythrobacter* sp. and characterization of physiological properties. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30 (1) : 143-151, 2001
- 18) Shim SM, Kim GH. Identification of carotenoid oxidation products in pigment extracts from Stur Ruby Grapefruit pulp at different temperatures with exposure to light. *J Food Sci Nutr* 6 (1) : 1-5, 2001
- 19) Hong SP, Kim MH, Hwang JK. Biological functions and production technology of carotenoids. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27 (6) : 1297-1306, 1998
- 20) Choi BB, Lee HJ, Bang SK. Studies on the amino acid, sugar and antioxidative effect of extracts from *Artemisia* sp. *Korean J Food Nutr* 7 (1) : 86-91, 2004
- 21) Jin SK, Kim IS, Song YM, Hah KH. Effects of dietary oils and tocopherol supplementation on fatty acid amino acid, TBARS, VBN and sensory characteristics of pork meat. *J Anim Sci Technol (Korean)* 45 (2) : 297-308, 2003
- 22) Kim DH, Kim JD, Cha BS, Lee JY, Byun MW. Effects of the gamma irradiation on composition of free amino acid, fatty acid and organic acid of soybean-based fermentation food. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30 (5) : 777-781, 2001
- 23) Cha HS, Hwang TB, Park TS, Park YK, Jo JS. Changes in chemical composition of Mume (*Prunus mume* Sieb. et Zucc) fruits during maturation. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6 (4) : 481-487, 1999
- 24) Kim YK, Lee HY, Oh DH. Changes in antioxidative activity and total polyphenols of crude and defatted grape seed extract by extraction condition and storage. *Korean J Food Preservation* 11 (4) : 455-460, 2004
- 25) Jeong SM, Son MH, Lee SC. A survey on contents of phenolic compounds of market fruit and vegetables juices. *J Basic Sci* 18: 117-123, 2003
- 26) Yeon SH, Kim MK, Kim HJ, Shim JG, Lee JH, Lee MW. Phenolic compounds from seeds of *Astragalus sinicus* and its antioxidative activities. *Korean J Pharmacogn* 34 (4) : 344-351, 2003
- 27) Kim YC, Kim MY, Chung SK. Phenolic acid composition and antioxidative activity of Chestnut endoderm. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 45 (3) : 162-167, 2002
- 28) You BJ. Isolation of antioxidative substances from browning reaction product obtained from L-ascorbic acid solution. *Korean J Food Sci Technol* 25 (3) : 214-219, 1993
- 29) You BJ, Lee KH, Lee JH. Antioxidant activity of amino acid-xylose browning reaction products. 3. Isolation of antioxygenic substance from browning reaction products by solvent extraction, column chromatography and gel filtration. *Bull Korean Fish Soc* 20 (4) : 273-281, 1987
- 30) You BJ, Lee KH, Lee JH. Antioxidant activity of amino acid-xylose browning reaction products. 1. Isolation of antioxygenic substrates from browning reaction products by TLC and dialysis. *Bull Korean Fish Soc* 19 (3) : 212-218, 1986
- 31) You BJ, Lee KH, Kim CY, Lee JH. Antioxidant activity of amino acid-xylose browning reaction products. 1. Antioxidant activity of various amine acids and their browning reaction products. *Bull Korean Fish Soc* 19 (1) : 1-9, 1986
- 32) Chung EJ, Kim SY, Kim JY, Ahn JY, Park JW, Cha MH, Lee YC. Effects of soy protein concentrate and age on plasma lipids and phospholipid fatty acid patterns in female rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32 (2) : 269-277, 2003
- 33) Shin MO, Bae SJ. The effect of *Daucus carota* L. extracts on the fluidity of phospholipid liposomes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30 (4) : 646-650, 2001
- 34) Lim SY, Rhee SH, Yi SY, Park KY. Growth inhibitory effect and changes in membrane phospholipid fatty acid composition on MG-63 and AI-521 human cancer cells by linoleic acid. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26 (4) : 662-668, 1997
- 35) Cha JY, Shin SR, Cho YS. Fatty acid composition of serum and liver in mice and sancho (*Zanthoxylum schinifolium*) seed oil. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7 (3) : 308-312, 2000
- 36) Chae YA, Cho MG, Song JS. Identification of chemotypes in traditional aromatic plant resources *Z. schinifolium* siebold et Zucc. and *Z. piperitum* DC. *Korean J Breed* 33 (2) : 126-132, 2001
- 37) Cho MG, Kim H, Chae YA. Analysis of volatile compounds in leaves and fruits of *Zanthoxylum piperitum* DC. by headspace SPME. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11 (1) : 40-45, 2003
- 38) Kim J, Cho YS, Seo KI, Joo OS, Shim KH. Antimicrobial activities of *Zanthoxylum schinifolium* and *Zanthoxylum piperitum* leaves. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7 (2) : 195-200, 2000
- 39) Lee JW. Volatile flavor components of Korean Sancho fruit and tree (*Zanthoxylum schinifolium*). *Korean J Food Nutr* 11 (5) : 493-498, 1998
- 40) Kim JS, Koo KM, Jung YH, Yong JG, Lee GG. Antimicrobial

- activities of *Zanthoxylum schinifolium* extract against *Vibrio parahaemolyticus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33 (3) : 500-504, 2004
- 41) Slater TF, Sawyer BC. The stimulatory effects of carbon tetrachloride and other halogenoalkanes on peroxidative reactions in rat liver fractions in vivo. *Biochem J* 123: 805, 1971
- 42) Ana MG, Guillermo RR, Cesar JA, Angel C. Non-enzymatic lipid peroxidation of microsomes and mitochondria isolated from liver and heart of pigeon and rat. *The International J Biochem Cell Biology* 32: 73-79, 2000
- 43) Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351, 1979
- 44) Tagashira M, Ohtake Y. A new antioxidative 1,3-benzodioxole from *Melissa officinalis*. *Planta Medica* 64: 555-558, 1998
- 45) Thompson AR, Harker LA. In 'Manual of hemostasis and thrombosis', 3rd ed. *Philadelphia USA*, pp.178-185, 1983.
- 46) Min KH. Antifungal activity of the extracts of *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc. against dermatophytes. *Mokchae Konghak* 26 (4) : 78-85, 1998
- 47) Mun SI, Ryu HS, Choi JS. Inhibition effects of *Zanthoxylum schinifolium* and its active principle on lipid peroxidation and liver damage in carbon tetrachloride-treated mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26 (5) : 942-951, 1997
- 48) Mun SI. Effects of *Zanthoxylum schinifolium* and its active principle on serum lipid levels in carbon tetrachloride-treated mice. *Korean J Food Nutr* 13 (3) : 249-254, 2000