

## 초피나무 추출물의 항산화, 항염증 및 항혈전 효능에 관한 연구

장미진<sup>1</sup> · 이순재<sup>1</sup> · 조성희<sup>1</sup> · 우미희<sup>2</sup> · 최정화<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>대구가톨릭대학교 식품영양학과

<sup>2</sup>대구가톨릭대학교 약학과

<sup>3</sup>진주국제대학교 식품과학부

### A Study on the Antioxidative, Anti-inflammatory and Anti-thrombogenic Effects of *Zanthoxylum piperitum* DC. Extract

Mi Jin Jang<sup>1</sup>, Soon Jae Rhee<sup>1</sup>, Sung Hee Cho<sup>1</sup>, Mi Hee Woo<sup>2</sup> and Jeong Hwa Choi<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Nutrition, and <sup>2</sup>Dept. of Pharmacy,  
Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

<sup>3</sup>School of Food Science, Jinju International University, Gyeongnam 660-759, Korea

#### Abstract

Effects of root, stem and leaf extracts of *Zanthoxylum piperitum* on the inhibition of lipid peroxidation in the hepatic microsome of rat, DPPH radical scavenging activity, soybean lipoxygenase 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 of the root and stem extracts. The high inhibition of lipid peroxidation was observed 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 stem extract. It was similar to the inhibition of hepatic microsomal lipid peroxidation. The DPPH radical scavenging activity was the highest in 0.50 mg/mL of ethyl acetate fraction, and it was 4.4-fold higher than that of  $\alpha$ -tocopherol, as an antioxidant standard. The DPPH radical scavenging activity was dependent on the extract concentration in the range of 0.12~5.00 mg/mL. The soybean lipoxygenase activity of ethyl acetate fraction was higher than that of *n*-butanol fraction and it was similar to the root and the stem extracts. The soybean lipoxygenase activity was the highest in 0.50 mg/mL of ethyl acetate fraction. The soybean lipoxygenase activity was dependent on the extract concentration in the range of 0.12~5.00 mg/mL. 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 0.10~2.00 mg/mL.

**Key words:** *Zanthoxylum piperitum*, antioxidant, anti-inflammatory, anti-thrombogenic

#### 서 론

초피나무(*Zanthoxylum piperitum* DC.)는 운향과(*Rutaceae*)에 속하는 낙엽떨기나무로 높이는 3 m, 지름 15 cm 정도이고 암수딴그루이며 5~6월에 황록색의 작은 꽃이 밀생하여 피어 9월에 열매가 붉게 익어 성숙되는데 겉껍질이 두 갈래로 벌어지면 검은색의 씨앗이 나온다(1-3).

대개 초피나무열매는 양기를 돕고 소화를 도우며, 탈항을 방지하고, 설사를 멈추고 염증을 없애는 등의 효과가 있어 한방에서는 해독, 구충, 진통 및 건위 약으로 많이 쓰인다(4). 열매 껍질은 향신료(5)와 약으로 쓰이는데 초피나무 열매 껍질을 배개 속에 넣고 자면 두통이나 불면증에 효과가 있다. 초피나무의 잎은 우리나라에서는 추어탕이나 매운탕의

향신료로 사용되며 어독 해독제로써 이용되며 김치를 시지 않게 하기 위해서도 사용된다(6). 줄기는 향균력(1), 국부마취 효과 및 어독성분이 있어 여뀌나 때죽나무처럼 물고기를 잡을 때 사용되기도 한다(7).

초피에 관한 연구로는 신미성분인 sanshool-I, II의 분리 및 구조결정, 정유성분의 분리(8,9), 향균효과(10,11), 정미성분(12,13), 방향성분(14), flavonoid 성분, alkaloid 성분(15) 및 어독성분의 동정(4), sterol 조성(16) 등 많은 연구가 진행되고 있으나 아직 항산화, 항염증 및 항혈전 작용에 관한 연구는 미비한 실정이다.

이에 본 연구에서는 초피나무의 식품학적 연구(2,5,17-21)와 약리학적 연구(4,22-29)를 바탕으로 하여 초피나무의 부위별 효능을 비교하기 위해 뿌리, 줄기 및 잎의 세부분으

\*Corresponding author. E-mail: jhappychoi@hanmail.net  
Phone: 82-55-751-8274. Fax: 82-55-751-8100

로 나누고 각각의 methanol, methylene chloride, ethyl acetate, *n*-butanol 및 H<sub>2</sub>O 추출물 등을 얻어 *in vitro*에서 흰쥐 간 microsome을 이용한 지질과산화 억제효과, DPPH radical 소거 작용, soybean lipoxygenase(SLO)활성을 통한 항염증 작용 및 응고시간 등을 관찰하고 그 중 유의적으로 좋은 활성을 나타낸 물질들을 선별하여 농도별로 관찰함으로써 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎의 추출물의 항산화, 항염증 및 항혈전에 관한 연구를 수행하였다.

**재료 및 방법**

**초피나무의 준비**

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

**초피나무 뿌리, 줄기 및 잎의 추출 및 분획과정**

초피나무 뿌리, 줄기 및 잎을 80% methanol로 추출한 후, Rotary Vacuum Evaporator로 농축하여 메탄올 농축액을 얻었다. 활성측정용으로 메탄올 농축액 일부를 남기고 나머지를 물 1 L에 녹여서 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(600 mL×3회)로 추출한 후 농축하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획을 얻었다. 수층은 EtOAc(600 mL×7회)로 추출하고 추출액을 농축하여 EtOAc 분획을 얻었다. 이어서 수층을 *n*-BuOH(600 mL×8회)로 추출한 후, 농축하여 *n*-butanol 분획을 얻었으며, 나머지 수층에는 침전이 있었으므로 침전을 여과하고, 수층을 농축하여 수층분획을 얻었다(Fig. 1).

**간 microsome에서의 지질과산화 억제 효과**

Sprague-Dawley 종 수컷으로부터 간 microsome 분획을 Slater의 방법(30)으로 분리하여 사용하였으며, FeSO<sub>4</sub>·

7H<sub>2</sub>O/L-ascorbic acid(31)에 의해 유도된 쥐 간 microsome의 지질과산화도를 Ohkawa 등의 방법(32)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 FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O와 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.

**DPPH(1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radical scavenging activity**

DPPH의 환원에 의한 free radical 소거활성을 관찰하기 위한 DPPH 소거활성은 Tagashira와 Ohtake의 방법(33)으로 측정하였다. 시료 200 µL를 ethanol에 녹여 100 µM DPPH ethanol solution 4 mL를 혼합하여 상온에서 10분 동안 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도에 대한 시료 흡광도의 감소를 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 백분율(%)로 나타내었다.

**Soybean lipoxygenase activity**

각 부위별, 분획별 시료의 항염증 효능 관찰을 위한 SLO 활성은 Koshihara 등의 방법(34)으로 측정하였다. 시료 20 µL를 0.1 M Tris-HCl buffer에 잘 혼합하여 20 µL soybean lipoxygenase를 첨가하여 37°C에서 5분 동안 반응시킨 후 50 µL linoleic acid solution을 첨가하여 234 nm에서 3분 동안 흡광도의 변화를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도에 대한 sample 흡광도의 감소를 백분율(%)로

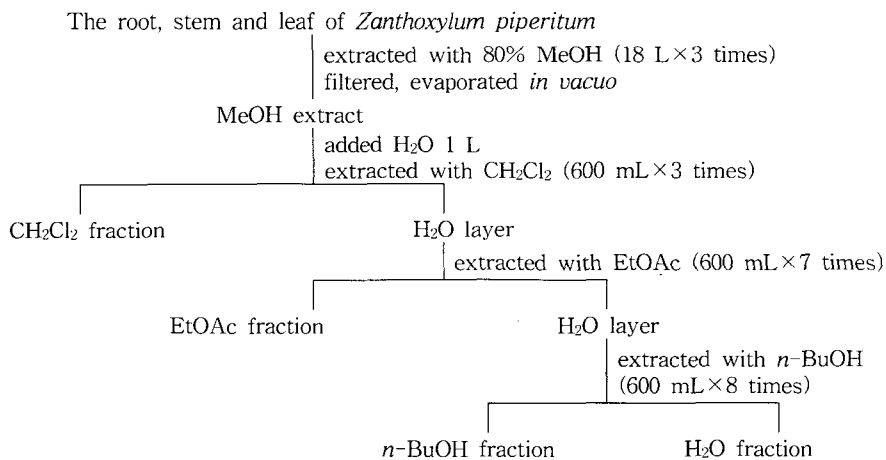


Fig. 1. Solvent extraction and fractionation of root, stem and leaf of *Z. piperitum*.

나타내었다.

Activated partial thromboplastin times

각 부위별, 분획별 시료의 항혈전 효능은 Thompson 등의 방법(35)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 CaCl<sub>2</sub> 용액 0.1 mL를 넣고 Amelung Kcia micro(Sigma Diagnostics)를 사용하여 응고 시간을 측정하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군 별로 표준차가 있는가를 검증하기 위해 분산분석을 수행하였으며 분산분석(ANOVA 검증)결과 유의성이 발견된 경우 군 간의 유의도는 Tukey's HSD test(36)에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

간 microsome에서 지질과산화 억제 활성

노화나 성인병의 예방효과를 검증하기 위해 초피나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 부위별 및 분획별 추출물을 이용하여 흰쥐 간 microsome의 지질과산화 억제 활성을 1.00 mg/mL 농도에서 1차 screening 한 결과는 Table 1과 같다. 초피나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 활성을 검색한 결과 초피나무 추출물의 지질과산화 억제 활성은 뿌리, 줄기 및 잎 모두 methanol층, methylene chloride fraction층 및 ethyl acetate층에서 높은 활성을 나타내었다. 부위별 지질과산화 억제 활성을 비교한 결과 잎의 활성이 가장 높았다. 따라서 초피나무 잎의 methanol층, methylene chloride fraction층 및 ethyl acetate층에서 높은 지질과산화 억제활성을 나타낼 수 있었다. 초피 oleoresin 제조 시 휘발성 성분 변화에 대한 연구

Table 1. Effects of root, stem and leaf extracts and fractions of *Zanthoxylum piperitum* on the inhibition of hepatic microsomal lipid peroxidation at the concentration of 1.00 mg/mL (%)

Extracts and fractions	Parts	Lipid peroxidation inhibition (%)		
		Root	Stem	Leaf
Methanol extract		96.3±1.1 <sup>1)2)</sup>	95.3±0.5 <sup>a</sup>	100.3±0.4 <sup>a</sup>
Methylene chloride fraction		94.5±2.1 <sup>a</sup>	88.3±0.2 <sup>c</sup>	92.5±0.3 <sup>b</sup>
Ethyl acetate fraction		96.1±2.5 <sup>a</sup>	97.5±0.0 <sup>b</sup>	96.9±0.6 <sup>a</sup>
<i>n</i> -Butanol fraction		25.5±1.7 <sup>b</sup>	10.0±0.3 <sup>d</sup>	89.1±0.9 <sup>c</sup>
H <sub>2</sub> O fraction		-1.8±0.1 <sup>c</sup>	-0.2±1.4 <sup>c</sup>	28.0±6.0 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>All values are mean±SE (n=3).

<sup>2)</sup>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. piperitum* are same as Fig. 1.

(10,37-39)에서도 초피 oleoresin에는 유지의 산화를 줄이는 항산화물질이 함유되어 있다고 하였으며, 본 실험에서의 지질과산화 억제효과와 함께 살펴볼 때 초피나무에는 우수한 항산화 성분이 함유되어 있음을 추정할 수 있다.

1차 screening에서 지질과산화 억제활성이 높은 물질로 선별된 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎의 추출물에 대해 농도별로 지질과산화 억제활성을 관찰하였다. 그 결과 0.05~0.25 mg/mL의 범위에서 농도 의존적으로 지질과산화 억제활성이 증가하였다(Fig. 2). 그리고 지질과산화 억제활성의 차이가 가장 큰 0.10 mg/mL 농도에서 선별된 물질의 지질과산화 억제활성을 비교한 결과에서도 초피나무 잎의 methanol층, methylene chloride fraction층 및 ethyl acetate층에서 높았으며, 특히 ethyl acetate층의 지질과산화 억제 활성은 항산화의 표준물질이 되는  $\alpha$ -tocopherol의 활성과 비교하여 검색한 결과 약 1.05배 더 높았다(Fig. 3).

DPPH radical scavenging activity

DPPH 라디칼을 이용한 항산화능 측정법은 전자공여체로부터 hydrogen radical을 받아 phenoxy radical을 생성하여 DPPH의 특이적인 흡수 band를 소거하는 원리를 이용한 것이다(40). DPPH에 의해 생성된 라디칼 소거 활성을 1.00 mg/mL 농도에서 1차 screening 한 결과는 Table 2와 같다. 초피나무 추출물의 DPPH radical 소거 활성은 뿌리, 줄기 및 잎 모두 methanol층, ethyl acetate층 및 *n*-butanol층에서 활성이 높았다. 부위별 DPPH radical 소거 활성을 비교한 결과 잎에서 가장 높은 활성을 나타내었으며, 이는 지질과산화 억제활성과 유사한 경향이었다. An 등(41)은 초피용매

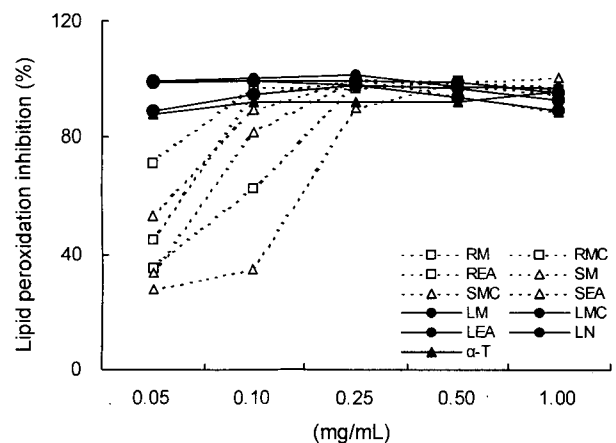
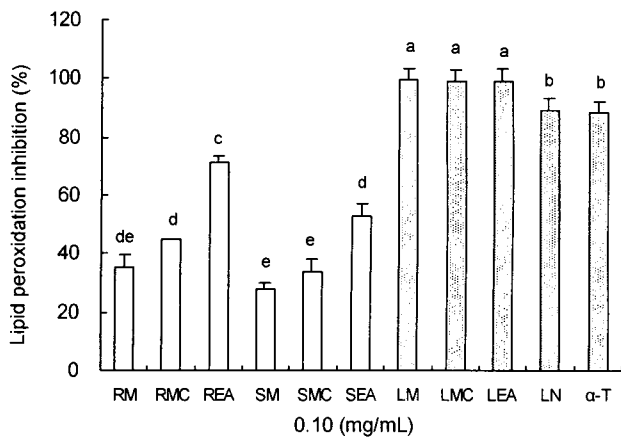


Fig. 2. Inhibition of hepatic microsomal lipid peroxidation of the extracts and fractions at the concentration in the range of 0.05~1.00 mg/mL.

RM: Methanol extract of root, RMC: Methylene chloride fraction of root, REA: Ethyl acetate fraction of root, SM: Methanol extract of stem, SMC: Methylene chloride fraction of stem, SEA: Ethyl acetate fraction of stem, LM: Methanol extract of leaf, LMC: Methylene chloride fraction of leaf, LEA: Ethyl acetate fraction of leaf, LN: *n*-Butanol fraction of leaf,  $\alpha$ -T:  $\alpha$ -Tocopherol, the standard substance of antioxidant.

The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. piperitum* are same as Fig. 1.



**Fig. 3.** Inhibition of hepatic microsomal lipid peroxidation by the extracts and fractions at the concentration of 0.10 mg/mL.

Samples are the same as in Fig. 2.

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. piperitum* are same as Fig. 1.

**Table 2.** Effects of root, stem and leaf extracts and fractions of *Zanthoxylum piperitum* on the DPPH radical scavenging activity at the concentration of 1.00 mg/mL (%)

Extracts and fractions	Parts	Root	Stem	Leaf
		DPPH radical scavenging activity		
Methanol extract		29.3 ± 5.1 <sup>1)b2)</sup>	28.5 ± 4.2 <sup>b</sup>	78.6 ± 4.4 <sup>bc</sup>
Methylene chloride fraction		25.8 ± 3.4 <sup>b</sup>	18.3 ± 2.9 <sup>c</sup>	68.8 ± 5.4 <sup>c</sup>
Ethyl acetate fraction		39.6 ± 2.8 <sup>a</sup>	42.2 ± 7.4 <sup>a</sup>	84.5 ± 2.3 <sup>ab</sup>
<i>n</i> -Butanol fraction		22.2 ± 4.8 <sup>b</sup>	23.1 ± 6.9 <sup>bc</sup>	85.3 ± 2.0 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O fraction		11.7 ± 2.8 <sup>c</sup>	10.4 ± 2.1 <sup>d</sup>	44.4 ± 4.5 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>All values are mean ± SE (n=3).

<sup>2)</sup>Values within a column with different superscripts are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

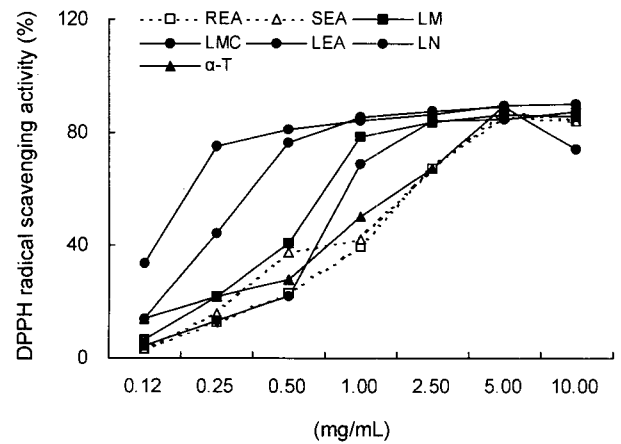
The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. piperitum* are same as Fig. 1.

추출물을 이용하여 옥수수유에 대한 항산화 효과를 관찰한 결과 가장 많이 사용되는 합성항산화제인 BHT와 같은 농도에서도 월등히 높은 효과를 나타내었다고 보고하였다.

1차 screening에서 DPPH radical 소거 작용이 높은 물질로 선별된 추출물에 대해 농도별로 DPPH radical 소거 작용을 관찰하였다. 그 결과 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎 모두 0.12~2.50 mg/mL에서 농도 의존적으로 증가하였으며, 잎의 ethyl acetate층 및 *n*-butanol층이 다른 부위의 분획물보다 DPPH radical 소거활성이 높았다(Fig. 4). DPPH radical 소거 활성의 차이가 가장 큰 0.50 mg/mL 농도에서 비교한 결과 초피나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물 중 잎의 ethyl acetate층 및 *n*-butanol층의 경우 항산화 물질의 지표가 되는  $\alpha$ -tocopherol보다 각각 2.4배 및 1.7배 높은 활성을 관찰할 수 있었다(Fig. 5).

**Soybean-lipoxygenase activity**

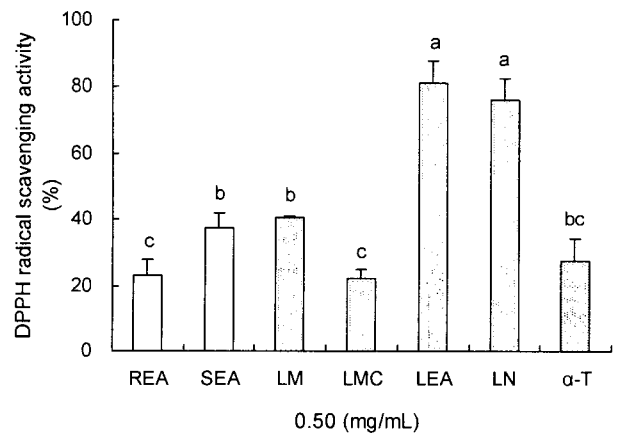
초피나무의 항염증 물질로서의 가능성을 알아보하고자 1.00



**Fig. 4.** DPPH radical scavenging activity of the extracts and fractions at the concentration in the range of 0.12~5.00 mg/mL.

Samples are the same as in Fig. 2.

The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. piperitum* are same as Fig. 1.



**Fig. 5.** DPPH radical scavenging activity of the extracts and fractions at the concentration of 0.50 mg/mL.

Samples are the same as in Fig. 2.

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. piperitum* are same as Fig. 1.

mg/mL농도에서 1차 screening 한 결과는 Table 3과 같다. 초피나무 잎의 경우에는 ethyl acetate층 및 *n*-butanol층에서 SLO 활성이 높았으며, 이는 뿌리 및 줄기에서도 같은 경향으로 확인되었다. 부위별 SLO 활성을 비교했을 때 잎의 활성이 높았다.

1차 screening에서 항염증 활성이 높은 물질로 선별된 추출물에 대해 농도별로 SLO를 관찰하였다. 그 결과 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎 모두 0.12~5.00 mg/mL 농도까지 농도 의존적으로 증가하였으며, 잎의 ethyl acetate층 및 *n*-butanol층에서 다른 부위의 분획물보다 활성이 높았다(Fig. 6). 초피나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물 중 가장 항염증 활성이 높은 분획물에 대해 활성의 차이가 가장 큰 0.50 mg/mL 농

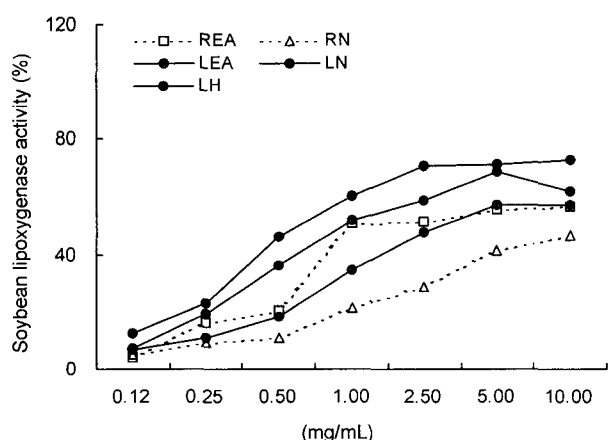
**Table 3. Effects of root, stem and leaf extracts and fractions of *Zanthoxylum piperitum* on the soybean lipoxygenase activity at the concentration of 1.00 mg/mL (%)**

Extracts and fractions	Parts		
	Root	Stem	Leaf
Methanol extract	6.0±2.4 <sup>1)(c2)</sup>	15.3±5.7 <sup>NS</sup>	27.3±5.0 <sup>c</sup>
Methylene chloride fraction	5.7±2.3 <sup>c</sup>	10.8±4.7	28.5±5.0 <sup>c</sup>
Ethyl acetate fraction	50.6±2.4 <sup>a</sup>	17.9±5.5	60.2±3.3 <sup>a</sup>
<i>n</i> -Butanol fraction	21.4±5.4 <sup>b</sup>	16.2±5.6	51.9±3.7 <sup>b</sup>
H <sub>2</sub> O fraction	1.3±6.4 <sup>c</sup>	11.2±5.4	34.7±4.6 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>All values are mean±SE (n=3).

<sup>2)</sup>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. piperitum* are same as Fig. 1



**Fig. 6. Soybean lipoxygenase activity of the extracts and fractions at the concentration in the range of 0.12~5.00 mg/mL.**

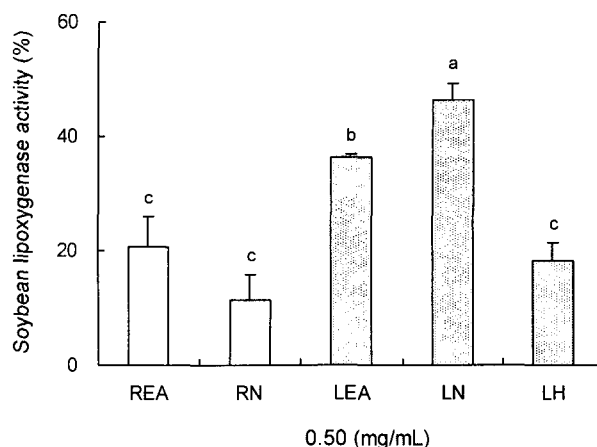
REA: Ethyl acetate fraction of root, RN: *n*-Butanol fraction of root, LEA: Ethyl acetate fraction of leaf, LN: *n*-Butanol fraction of leaf, LH: H<sub>2</sub>O fraction of leaf.

The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. piperitum* are same as Fig. 1

도에서 비교한 결과 항염증 활성은 잎의 *n*-butanol층에서 가장 높은 활성을 나타내었다(Fig. 7).

#### Activated partial thromboplastin times

정상적인 혈액순환은 체내에서의 혈액응고 반응계와 혈전용해 반응계가 상호보완적으로 조절되면서 혈액순환을 용이하게 하며 이들 중 혈액응고 반응계의 기작은 혈관벽에 혈소판이 침착, 응집하여 혈소판 혈전을 형성한 후 혈액응고계가 활성화되어 혈소판 응집피를 중심으로 피브린 혈전이 형성되는 것으로 보고되어 왔다. 피브린 혈전의 생성은 수많은 인자들의 여러 단계를 거쳐 피브린 응고에 직접 관여하는 트롬빈이 활성화되어 최종적으로 피브리노겐으로부터 피브린 단량체를 생성하며 피브린 단량체들은 칼슘에 의해 중합되어 혈소판과 내피세포에 결합되어 피브린폴리머를 형성하여 영구적인 혈전을 생성하게 된다(42). 또한 트롬빈은 혈액응고반응을 촉진시켜 혈전생성에 중추적인 역할을 한다.



**Fig. 7. Soybean lipoxygenase activity of the extracts and fractions at the concentration of 0.50 mg/mL.**

Samples are the same as in Fig. 6.

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. piperitum* are same as Fig. 1.

초피나무의 항응고 효능을 알아보기 위하여 1.00 mg/mL 농도에서 1차 screening 한 결과는 Table 4와 같다. 초피나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 ethyl acetate층 및 *n*-butanol층에서 APTT 활성이 높았으며, 이는 뿌리 및 줄기에서도 같은 경향이였다. 부위별 APTT 활성을 비교에서는 잎의 응고 시간이 가장 지연되었다. 따라서, 초피나무 추출물의 항응고 활성은 잎의 *n*-butanol층에서 높은 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

1차 screening에서 항응고 활성이 가장 높은 물질로 선별된 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎의 *n*-butanol층을 농도별로 관찰하였다. 그 결과 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎 모두 0.05~0.50 mg/mL 농도까지 농도 의존적으로 증가하였으며, 잎의 *n*-butanol층에서 다른 부위의 분획물보다 항응고 활성이 높았다(Fig. 8). 초피나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물 중 가장 항응고 활성이 높은 분획물에 대해 활성의 차이가 가장 큰 0.10 mg/mL 농도에서 비교한 결과 잎의 *n*-butanol층에서

**Table 4. Effects of root, stem and leaf extracts and fractions of *Zanthoxylum piperitum* on the activated partial thromboplastin times at the concentration of 1.00 mg/mL (%)**

Extracts and fractions	Parts		
	Root	Stem	Leaf
Methanol extract	80.0±2.9 <sup>1)(c2)</sup>	80.8±3.8 <sup>b</sup>	90.2±9.0 <sup>bc</sup>
Methylene chloride fraction	86.7±0.6 <sup>b</sup>	80.3±0.3 <sup>b</sup>	19.8±5.4 <sup>d</sup>
Ethyl acetate fraction	80.1±2.0 <sup>c</sup>	91.8±9.3 <sup>ab</sup>	70.8±8.0 <sup>d</sup>
<i>n</i> -Butanol fraction	94.6±1.9 <sup>a</sup>	100.8±9.4 <sup>a</sup>	128.0±10.1 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O fraction	84.9±3.0 <sup>bc</sup>	84.1±4.2 <sup>b</sup>	96.5±4.4 <sup>bc</sup>

<sup>1)</sup>All values are mean±SE (n=3).

<sup>2)</sup>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. piperitum* are same as Fig. 1.

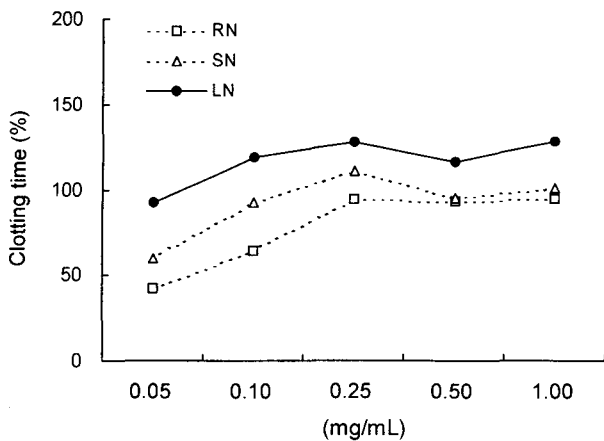


Fig. 8. Activated partial thromboplastin times of the extracts and fractions at the concentration in the range of 0.10 ~2.00 mg/mL.

RN: *n*-Butanol fraction of root, SN: *n*-Butanol fraction of stem, LN: *n*-Butanol fraction of leaf.

The method of extraction of root, stem and leaf of *Z. piperitum* are same as Fig. 1.

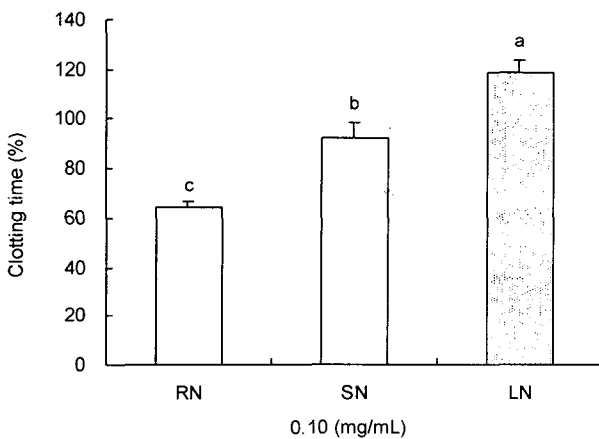


Fig. 9. Activated partial thromboplastin times of the extracts and fractions at the concentration of 0.10 mg/mL. Samples are the same as in Fig. 8.

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. piperitum* are same as Fig. 1.

가장 높은 항응고 활성을 나타내었다(Fig. 9).

이상의 결과로부터 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물 중에서 잎의 ethyl acetate층의 높은 지질과산화 억제효과 및 DPPH radical 소거 작용을 관찰할 수 있었으며, 잎의 *n*-butanol층에서의 항염증 및 항응고 효능을 관찰할 수 있었다. 따라서 초피나무의 항산화, 항염증 및 항응고의 우수한 생리적 효능을 검증할 수 있었다.

## 요 약

본 연구에서는 초피나무의 생리활성 물질로서의 효능을 알아보고자 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎의 부위별 및 분획물

을 이용하여 흰쥐 간 microsome의 지질과산화 억제 작용, DPPH radical 소거작용, soybean lipoxygenase 활성 및 activated partial thromboplastin times(APTT)을 관찰하였다. 초피나무의 뿌리, 줄기 및 잎의 부위별 및 분획별 추출물을 이용하여 흰쥐 간 microsome의 지질과산화 억제 활성을 1.00 mg/mL농도에서 1차 screening 한 결과 뿌리, 줄기 및 잎 모두 ethyl acetate층 및 methylene chloride층에서 높은 활성을 나타내었다. 부위별 지질과산화 억제 활성을 비교한 결과 잎의 활성이 가장 높았다. 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎의 ethyl acetate층 및 methylene chloride층은 0.05~0.25 mg/mL의 범위에서 농도 의존적으로 지질과산화 억제활성이 증가하였다. 지질과산화 억제활성의 차이가 가장 큰 0.05 mg/mL 농도에서 선별된 물질의 지질과산화 억제활성을 비교한 결과 초피나무 잎의 ethyl acetate층 및 methylene chloride층에서 높았다. DPPH에 의해 생성된 라디칼 소거 활성은 지질과산화 억제활성과 같은 경향이였다. 초피나무의 SLO 활성 및 APTT 활성을 위에서도 같이 1.00 mg/mL농도, 농도별 및 활성의 차이가 큰 농도에서 screening 한 결과 잎의 *n*-butanol층에서 가장 높은 활성을 나타내었다. 이상의 결과로부터 초피나무 뿌리, 줄기 및 잎의 분획물 중에서 잎의 ethyl acetate층의 높은 지질과산화 억제효과 및 DPPH radical 소거 작용을 관찰할 수 있었으며, 잎의 *n*-butanol층에서의 항염증 및 항응고 효능을 관찰할 수 있었다.

## 문 헌

- Rim SI. 1987. Studies on the constituents of *Zanthoxylum Coreanum* Nakal. *Bull K H Pharma Sci* 15: 125-129.
- Kim J, Jeong CH, Bae YI, Shim KH. 2000. Chemical components of *Zanthoxylum schinifolium* and *Zanthoxylum piperitum* leaves. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7: 189-194.
- Park KW, Kim SS, Choi JS. 1988. A morphological and anatomical study on the leaves and spine of the genus *Zanthoxylum* in Korea. 1988. *J Inst Agr Res Util Gyeong-sang Natl Univ* 22: 77-83.
- Kim YD, Kang SK, Oh MR. 1993. A study on the ichthyotoxic constituents of chopi (*Zanthoxylum piperitum* DC). *J Korean Soc Food Nutr* 22: 617-620.
- Cho MG, Chang CS, Chae YA. 2002. Variation of volatile composition in the leaf of *Zanthoxylum schinifolium* Siebold et Zucc. & *Zanthoxylum piperitum* DC. *Korean J Medicinal Crop Sci* 10: 162-166.
- Kim JH, Lee KS, Oh WT, Kim KR. 1989. Flavor components of the fruit peel and leaf oil from *Zanthoxylum piperitum* DC. *Korean J Food Sci Technol* 21: 562-568.
- Ko YS, Han HJ. 1996. Chemical constituents of Korean chopi (*Zanthoxylum piperitum*) and sancho (*Zanthoxylum schinifolium*). *Korean J Food Sci Technol* 28: 19-27.
- Aihara T. 1950. On the principles of *Xanthoxylum piperitum* DC. II. The isolation of sanshools and the structure of sanshool-I. *Yakugaku Zasshi* 77: 405-409.
- Aihara T. 1950. On the principles of *Xanthoxylum piperitum* DC. III. The structure of sanshool-II. *Yakugaku Zasshi* 70: 409-411.

10. Katayama T. 1958. Chemical significance of the volatile components of spices in the food preservative viewpoint I. On the volatile components of *Xanthoxylum piperitum*. *Bull Jap Soc Sci Fisheries* 24: 511-514.
11. Kurita N, Koike S. 1982. Synergistic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oil components. *Agric Biol Chem* 46: 159-165.
12. Kusumoto S, Yoshihara K, Hirose Y. 1968. Constituents of fruit oil from Japanese pepper. *Chem Soc Bull* 41: 1945-1949.
13. Kusumoto S, Ohsuka A, Kotake M. 1968. Constituents of leaf oil from Japanese pepper. *Chem Soc Bull* 41: 1950-1953.
14. Sakai T, Yoshihara K, Hirose Y. 1970. A comparative study of the constituents of volatile oils of *Xanthoxylum*. *Chem Soc Bull* 43: 484-487.
15. Woo IK, Yun HS, Chi HJ, Woo WS. 1978. Occurrence of alkaloids in Korean medicinal plants. *Report of Natural Product Institute of Seoul National University* 17: 17-19.
16. Oka Y, Kiriyaama S, Yoshida A. 1973. Sterol composition of vegetables. *J Jap Soc Food & Nutr* 26: 121-128.
17. Cha YA, Cho MG, Song JS. 2001. Identification of chemotypes in traditional aromatic plant resources *Z. schinifolium* Siebold et Zucc and *Z. piperitum* DC. *Korean J Breed* 33: 126-132.
18. Cho MG, Song JS, Chae YA. 2001. Volatile components analysis using SPME in traditional aromatic plant resources, *Zanthoxylum schinifolium* Siebold et Zucc. and *Z. piperitum* DC. *Korean J Medicinal Crop Sci* 9: 192-197.
19. Park JH, Cha WS, Oh SL, Cho YJ, Lee WY, Hur HO, Yang JM, Cho SG. 2000. Volatile flavor components of wild chopi (*Zanthoxylum piperitum* De Candolle) leaf. *Korean J Food & Nutr* 13: 483-489.
20. Cho MG, Kim H, Chae YA. 2003. Analysis of volatile compounds in leaves and fruits of *Zanthoxylum schinifolium* Siebold et Zucc. & *Zanthoxylum piperitum* DC. by head-space SPME. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 40-45.
21. Lee CJ, Kim MS, Shen JY, Kim YD, Shin JH. 2003. The extraction condition of pungent compounds from *Zanthoxylum piperitum* D.C pericarps by using supercritical fluid extraction. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 19-23.
22. Chung SK, Jung JD, Cho SH. 1999. Antimicrobial activities of chopi (*Zanthoxylum piperitum* DC.) extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 371-377.
23. Park JH, Park SS, Kim JM. 2002. Pharmacognostical studies on the "Cho Pi Na Mu". *Kor J Pharmacogn* 33: 75-80.
24. Kim SH, Park KY. 1993. Inhibitory effects of Chinese pepper on the mutagenicity and the growth of MG-63 human osteosarcoma cells. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 21: 628-634.
25. Kim J, Cho YS, Seo KI, Joo OS, Shim KH. 2000. Antimicrobial activities of *Zanthoxylum schinifolium* and *Zanthoxylum piperitum* leaves. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7: 195-200.
26. Kim YD, Kang SK, Choi OJ, Lee HC, Jang MJ, Shi SC. 2000. Screening of antimicrobial activity of chopi (*Zanthoxylum piperitum* DC.) extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1116-1122.
27. Lim HT, Kim JH, Yeoung YR, Song YN. 1993. Establishment of mass propagation system of *Zanthoxylum piperitum* DC. through *in vitro* culture. *J Agri Sci* 5: 83-91.
28. Kim HJ, Shin HC, Sun BY, Kim H, Choi HK. 1996. Reproductive characters of *Zanthoxylum piperitum* DC. and *Fagara mantchurica* (Benn.) Honda in Korea. *Kor J Plant Tax* 25: 195-207.
29. Seo KL, Lee HJ, Koh KH. 1999. Antimicrobial activity of the volatile components from fruit peel of chopi (*Zanthoxylum piperitum* DC.). *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 27: 179-183.
30. Slater TF, Sawyer BC. 1971. The stimulatory effects of carbon tetrachloride and other halogenoalkanes on peroxidative reactions in rat liver fractions *in vivo*. *Biochem J* 123: 805-811.
31. Ana MG, Guillermo RR, Cesar JA, Angel C. 2000. Non-enzymatic lipid peroxidation of microsomes and mitochondria isolated from liver and heart of pigeon and rat. *Int J Biochem Cell Biol* 32: 73-79.
32. Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-357.
33. Tagashira M, Ohtake Y. 1998. A new antioxidative 1,3-benzodioxole from *Melissa officinalis*. *Planta Medica* 64: 555-558.
34. Koshihara Y, Neichi T, Murota S, Lao A, Fujimoto Y, Tatsuno T. 1984. Caffeic acid is a selective inhibitor for leukotriene biosynthesis. *Biochim Biophys Acta* 792: 92-97.
35. Thompson AR, Harker LA. 1983. *Manual of hemostasis and thrombosis*. 3rd ed. Philadelphia, USA. p 178-185.
36. Sreel RGD, Torrie JH. 1990. *Principles and procedures of statistics*. McGraw Hill, New York, USA.
37. Hur SS, Bae DH, Kim SU, Choi YH. 1998. Properties of chopi oleoresin extracted with various solvents and effects of extraction conditions on volatile components. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 406-412.
38. Giese J. 1994. Spices and seasoning blends. *Food Technology* 48: 88-92.
39. Guenther E. 1949. *The essential oils*. Academic press, New York. p 1376.
40. Ancerewicz J, Migliavacca E, Carrupt PA, Testa B, Bree F, Zini R, Tillement JP, Labidalle S, Guyot D, Chauvet-Monges AM, Crevat A, Le Ridant A. 1998. Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radic Biol Med* 25: 113-120.
41. An MS, Won JS, Kim HJ, Han MN. 2004. A study on the antioxidative and antimicrobial activities of the chopi (*Zanthoxylum piperitum* DC.) solvent extracts. *Korean J Food Culture* 19: 170-176.
42. Fenton JW, Ofosu FA, Moon DG, Maraganore JM. 1991. Thrombin structure and function: why thrombin is the primary target for actithrombotics. *Blood Coagul Fibrin* 2: 69-75.

(2005년 9월 23일 접수; 2005년 12월 3일 채택)