

유채 전초 추출물 유래 항산화 및 항염 활성 성분

조연정¹ · 현주미¹ · 강지미¹ · 김창윤¹ · 이남호^{1,2*}

¹(사)제주산학융합원 연구지원팀

²제주대학교 화학·코스메틱스학과

Anti-oxidative and Anti-inflammatory Constituents from the Extracts of *Brassica napus* L. Whole Plant

Yeon Jeong Jo¹, Ju Mi Hyun¹, Ji Mi Kang¹, Chang Yun Kim¹, and Nam Ho Lee^{1,2*}

¹R&D Team, Jeju Industry-University Convergence Center, Jeju 63243, Korea

²Department of Chemistry and Cosmetics, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

Abstract – In this study, we investigated anti-oxidative and anti-inflammatory efficacy, and identified their constituents from *Brassica napus* L. (Korean name: Yuchae) whole plant. Upon the anti-oxidative activities screening, the ethanol extract exhibited potent DPPH and ABTS⁺ radical scavenging activities. On the anti-inflammation studies using LPS-induced RAW264.7 cells, the extract inhibited the production of NO and pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6) effectively. To identify major constituents of *B. napus* extract, further purification was performed and led to isolation of two compounds; isorhamnetin 3,7-*O*-diglucoside(**1**) and isorhamnetin 3-*O*-glucoside(**2**). Quantitative analysis by high pressure liquid chromatography (HPLC) determined the flavonoid **1** as the major constituent. Isolated compounds showed DPPH radical scavenging effects and decreased NO levels without causing cell toxicities. These results indicate that the extract of Yuchae, a rich plant resource in Jeju Island, could be potentially applicable as an anti-oxidative and/or anti-inflammatory ingredients.

Keywords – *Brassica napus* L., Anti-oxidation, Anti-inflammation, Isolation

피부는 외부에서 유입되는 이물질로부터 인체를 보호하고, 피지와 땀의 분비, 약물과 화장품의 흡수, 촉각, 압각과 같은 감각의 인지 기능이 있다. 피부는 신체의 가장 바깥쪽에 위치하여 다양한 외부 인자에 노출되어 있는데, 생리적, 환경적 변화에 의해 색소침착, 홍반, 피부염, 비듬 등의 피부 이상 또는 지루성 피부염, 아토피성 피부염, 여드름 등의 염증 질환이 발생한다.¹⁾ 염증은 우리 인체에 가장 흔히 발생하는 질환으로써, 염증반응은 생체나 조직에 물질적 작용 또는 화학물질, 세균 감염 등에 대한 방어 반응 중 하나이며, 그 손상 부위를 수복하거나 재생하려는 기전이다.²⁾ 염증 과정에는 세포 내 다양한 염증 조절인자들이 매개체로서 관여하며 그 매개체로는 활성산소, 산화질소, 사이토카인 등이 있다. 대식세포에서 생산되는 tumor necrosis factor(TNF)- α , interleukin(IL)-1 β 및 IL-6는 대표적인 염증성 사이토카인으로

각종 염증질환의 발생과 진행에 중요한 작용을 하는 것으로 보고되고 있다.³⁾ 염증은 감염이나 상처에 대한 후천적인 방어기전이지만 염증 반응이 진행되는 동안 대식세포에서 생산되는 염증 매개물질들이 과도하게 생성되면 관절염, 기관지 천식, 패혈증, 암 등과 같은 질병이 유발된다. 따라서 염증 반응의 억제는 단순한 염증 질환뿐만 아니라 각종 성인병, 면역질환, 암을 치료하는데 있어서도 매우 중요한 목표가 된다.⁴⁾

한편, 염증반응을 유발하는 원인 중 또 다른 하나는 체내에서 생성되는 산화적 스트레스이다. 특히 흡연이나 음주, 비만, 독성물질은 체내 산화적 스트레스를 증가시켜 염증반응을 유발함으로써 만성질환을 일으킨다고 알려져 있다.⁵⁾ 산소는 생물에게 없어서는 안 되는 요소지만, 생물 조직 내 여러 유기물질에 대해 산화 반응을 유발시켜 부작용이 수반되는 양면성을 가지고 있다. 생체 대사 과정에서 끊임없이 발생하는 활성산소종(ROS, reactive oxygen species)은 산소의 환원 대사로 미토콘드리아나 peroxisome 등의 정상세

*교신저자(E-mail): namho@jejunu.ac.kr

(Tel): +82-64-755-8220

포 내 대사과정이나 세포질 내 효소들의 작용으로 내부로부터 형성되거나 다양한 외부 요인에 의해 형성된다. 이때 과도하게 생성된 ROS는 DNA, 단백질, 지방의 과산화에 의하여 세포의 손상을 가져오기도 한다. ROS의 발생이 세포 내 항산화 능력을 초과하는 경우에는 신체가 산화적 스트레스에 노출되어 노화, 암, 뇌질환, 심장질환, 동맥경화, 피부 손상, 관절염 및 치매 등의 질병이 유발된다.⁶⁾

유채(*Brassica napus* L.)는 지중해 연안, 중앙아시아 지역이 원산지로 십자화과(Brassicaceae)에 속하며 한국, 중국, 일본에 분포하고 있다. 두해살이풀로 키는 1 m 정도이며 꽃은 4월 경에 노란색으로 가지 끝에 달린다. 유채는 지방 40%와 단백질 25~35%를 함유하고 있는 세계 5대 유지 자원 작물(대두, 낙화생, 면실, 유채, 해바라기)로 유채 종실에서 얻은 기름은 대부분 바이오디젤의 원료, 식용유 등으로 사용되고 있다.⁷⁾ 현재 tocopherol, phyosterol, polyphenol과 같은 항산화 물질, 불포화지방산인 oleic acid 등 유채의 기능성 성분⁸⁾ 및 다양한 생리활성에 대한 연구⁹⁻¹¹⁾가 이루어지고 있으나 대부분 유채의 종자, 꽃, 유채박 등에 집중되어있다.

최근 농업 부산물의 산업적 활용성에 대한 관심이 증대되고 있음에 따라 기능성 소재로 유채 전초의 활용 가능성을 확인하는 연구를 진행하였다. 따라서 본 연구에서는 유채 추출물 및 분리된 화합물의 항산화, 항염 활성을 검증하여 기능성 식·의약품 및 화장품 관련 천연 소재로서의 이용 가능성을 확인하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기 - 시료의 추출 및 성분 분리에 사용된 용매들은 Merk 및 대정화금의 제품을 사용하였다. Medium pressure liquid chromatography(MPLC, BÜCHI Labortechnik AG)에는 flash pure select(C₁₈, BÜCHI Labortechnik AG) 컬럼을 사용하였다. 구조분석을 위한 질량분석 스펙트럼은 Vion IMS QTOF mass spectrometer(Waters, USA), NMR 스펙트럼은 JNM-ECX 400(FT-NMR system, JEOL, Japan)로 측정하였으며 NMR 측정 용매는 CIL사의 NMR 전용 용매로 DMSO-*d*₆, CD₃OD를 사용하였다.

추출물 제조 - 실험에 사용된 유채(시료번호: JIC-58, *B. napus*) 전초는 제주도 애월읍 어음리에서 2019년 10월에 채집하였다. 채집한 시료는 음지건조 후 분쇄하여 사용하였으며 시료 20.0 g을 70% 에탄올 400 mL에 넣고 실온에서 48 h 동안 침출시켰다. 침출시킨 시료를 감압 흡입여과기를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 1회 더 반복 실시하였다. 이렇게 여과하여 얻어진 여액은 40°C 이하의 수욕 상에서 회전 진공 농축기로 농축하여 사용하였다.

유채 추출물로부터 성분의 분리 및 동정 - 에탄올 추출

물 1.0 g을 극성에 따라 세분화하기 위하여 MPLC를 수행하였다. H₂O-MeOH(10-100%)의 용매를 기울기 조건으로 각 25 mL씩 용출하여 총 35개의 분획물을 얻었다(Fr. MP1-35). MPLC 분획물 중 Fr. MP10-11로부터 화합물 1(13.7 mg), Fr. MP21-23으로부터 화합물 2(3.2 mg)을 얻었다. 화합물 1, 2의 NMR 및 HRMS 데이터는 아래와 같다.

Isorhamnetin 3,7-O-diglucoside(1) - ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H: 7.91 (1H, d, *J*=1.8, H-2'), 7.52 (1H, dd, *J*=8.7, 1.8, H-6'), 6.93 (1H, d, *J*=8.7, H-5'), 6.80 (1H, d, *J*=1.8, H-8), 6.45 (1H, d, *J*=1.8, H-6), 5.58 (1H, d, *J*=7.3, H-1'), 5.08 (1H, d, *J*=7.3, H-1''), 3.84 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.45-3.10 (sugar peak), ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_C: 177.5 (C-4), 162.8 (C-7), 160.8 (C-5), 156.8 (C-9), 156.0 (C-2), 149.6 (C-3'), 146.9 (C-4'), 133.2 (C-3), 122.2 (C-1'), 120.9 (C-6'), 115.2 (C-5'), 113.5 (C-2'), 105.6 (C-10), 100.6 (C-1'''), 99.7 (C-1'''), 99.3 (C-6), 94.5 (C-8), 77.5 (C-5'''), 77.2 (C-5'''), 76.4 (C-3'''), 74.3 (C-2'''), 73.0 (C-2'''), 69.8 (C-4''), 69.5 (C-4'''), 60.6 (C-6''), 60.5 (C-6'''), 55.6 (3'-OCH₃), HR-ESI-MS: *m/z* 639.1564 [M-H]⁻ (calcd for C₂₈H₃₁O₁₇, *m/z* 639.1560).

Isorhamnetin 3-O-glucoside(2) - ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_H: 7.93 (1H, d, *J*=2.2, H-2'), 7.58 (1H, dd, *J*=8.2, 2.2, H-6'), 6.91 (1H, d, *J*=8.2, H-5'), 6.40 (1H, d, *J*=2.2, H-8), 6.20 (1H, d, *J*=2.2, H-6), 5.42 (1H, d, *J*=7.3, H-1'), 3.94 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.85-3.44 (sugar peak), ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_C: 179.5 (C-4), 166.2 (C-7), 163.2 (C-5), 158.8 (C-2), 158.6 (C-9), 150.9 (C-4'), 148.5 (C-3'), 135.4 (C-3), 123.9 (C-6'), 123.2 (C-1'), 116.1 (C-5'), 114.5 (C-2'), 105.9 (C-10), 103.6 (C-1''), 100.0 (C-6), 94.8 (C-8), 78.7 (C-3''), 78.2 (C-5''), 76.0 (C-2''), 71.6 (C-4''), 62.6 (C-6''), 56.9 (3'-OCH₃), HR-ESI-MS: *m/z* 477.1043 [M-H]⁻ (calcd for C₂₂H₂₁O₁₂, *m/z* 477.1032).

DPPH 라디칼 소거 활성 - 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 활성 실험은 Blois 등의 방법¹²⁾을 응용하였다. 96 well plate에 각 시료 용액 20 μL와 0.2 mM DPPH 용액 180 μL를 혼합하여 상온에서 20분간 반응시켰다. Microplate reader를 사용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였고, 각 시료의 라디칼 소거율이 50%일 때의 시료 농도(SC₅₀)를 계산하였다.

ABTS⁺ 라디칼 소거 활성 - 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 양이온 라디칼 소거 활성 실험은 Re 등의 방법¹³⁾을 응용하였다. 7.0 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 상온, 암소에서 16시간 동안 반응시켜 ABTS⁺ 라디칼을 형성시켰다. 이 용액은 700 nm에서 흡광도가 0.78 ± 0.02가 되도록 에탄올로 희석하여 실험에 사용하였다. 96 well plate에 각 시료 용액 20 μL와 희

석한 ABTS⁺ 용액 180 μ L를 가하여 상온에서 15분간 반응시켰다. Microplate reader를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였고, 각 시료의 라디칼 소거율이 50%일 때의 시료 농도(SC₅₀)를 계산하였다.

세포 배양 – Murine macrophage cell line인 RAW264.7 cell은 American type cell culture(ATCC, USA)로부터 분양받아 100 U/mL penicillin, 100 μ g/mL streptomycin과 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco Inc., USA)이 함유된 dulbecco's modified eagle's medium(DMEM, Gibco Inc., USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였으며, 2일 간격으로 계대 배양하였다.

NO 생성 억제 활성 – 24 well plate에 RAW264.7 cell을 2.0×10^5 cells/well로 분주하고 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 18시간 전 배양하였다. 1 μ g/mL의 LPS를 포함하는 배지로 교환하고 농도별로 시료를 각각 가하여 24시간 배양하였다. 이후 세포 배양 상등액 100 μ L와 Griess 시약(1% sulfanilamide, 0.1% naphthylethylenediamine in 2.5% phosphoric acid) 100 μ L를 혼합하여 96 well plate에서 10분간 반응시키고 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 NO의 양은 sodium nitrite(NaNO₂)를 표준물질로 사용하여 작성한 표준 검정곡선을 통해 세포 배양액 중에 존재하는 NO₂⁻의 형태로 측정하였다.

전염증성 사이토카인(TNF- α , IL-1 β , IL-6) 생성 억제 활성 – 24 well plate에 RAW264.7 cell을 2.0×10^5 cells/well로 분주하고 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 18시간 전 배양하였다. 1 μ g/mL의 LPS를 포함하는 배지로 교환하고 농도별로 시료를 가하여 24시간 배양하였다. 이후 세포 배양 상등액의 사이토카인 생성량을 sandwich enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) kit를 이용하여 정량하였으며, TNF- α ELISA kit(Invitrogen, USA), IL-1 β ELISA kit(R&D Systems, USA), IL-6 ELISA kit(Invitrogen, USA)를 사용하였다. Standard에 대한 표준 곡선의 r² 값은 0.99 이상이었다.

세포 독성 평가(MTT assay) – RAW264.7 cell을 24 well plate에 2.0×10^5 cells/well로 분주하고 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 18시간 전 배양 후, LPS와 시료를 농도별로 동시에 처리하여 24시간 배양하였다. 배양된 세포에 500 μ g/mL의 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)를 첨가하여 37°C에서 3-4시간 반응시킨 후, 상등액을 제거하였다. 이후 DMSO를 가하여 살아있는 세포와 반응하여 생긴 formazan 침전물을 용해시키고 570 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율(%)을 계산하였다.

HPLC 성분 분석 – 유체 추출물의 주요 성분 함량을 분석하기 위하여 HPLC 분석을 실시하였다. 시료는 70% 에탄올 추출물 20 mg을 메탄올 2 mL에 녹인 후, 0.45 μ m syringe filter로 여과시킨 용액을 실험에 사용하였다. HPLC 분석은 Merck의 HPLC grade water 및 methanol을 이용하여

Table I. HPLC Chromatographic conditions of control factors

Conditions of HPLC analysis	
Column	Column Kromasil C18 (4.6 \times 250 mm, 5 μ m)
Column temperature	40°C
Injection volume	10 μ L
Mobile phase	A: Water, B: Methanol
Flow rate	1.0 mL/min
UV wavelength	250 nm

기울기 용리법으로 분리하였고, 이때 HPLC 기기 분석 및 용리 조건은 Table I에 나타내었다. 분석 기기로 HPLC(Waters e2695 separation module system, USA)와 PDA detector(Waters 2998, USA)를 사용하였으며 데이터 분석 S/W는 Waters의 Empower system을 이용하였다.

통계 분석 – 모든 실험은 3회 반복으로 실시하였고 통계 분석은 평균과 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었으며, Student's *t*-test법을 이용하여 *p*-value가 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

유체 추출물의 항산화 활성 – 인체에 유해한 활성산소종 중에는 hydroxyl radical(HO \cdot)과 같은 홀 전자를 갖는 자유 라디칼이 포함되어 있다. 일반적으로 전자는 쌍으로 존재하려는 경향 때문에 홀로 있으면 다른 분자들과 반응하려는 경향이 크다. 시료의 항산화 활성은 이러한 홀 전자에 전자를 제공함으로써 라디칼을 소거하는 능력인 환원력을 통하여 측정할 수 있다.¹⁴⁾ 따라서 본 실험에서는 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼을 시약으로 이용하여 유체 추출물을 농도별로 처리하였고 ascorbic acid를 양성대조군으로 사용하여 항산화능을 측정하였다. 라디칼 소거 활성 실험 결과 유체 추출물에 의해 농도 의존적으로 항산화 활성이 나타났으며 SC₅₀값은 각각 479.8, 143.9 μ g/mL로 확인하였다(Fig. 1).

NO 생성 억제 활성 – 대식세포는 염증 반응에 관여하는 주요 세포로 알려져 있으며, 자극에 노출되거나 면역세포들이 분비하는 사이토카인 등에 의해 활성화되며, 감염초기에 NO와 사이토카인을 생산하여 생체방어에 중요한 역할을 한다.¹⁵⁾ 그람 음성균의 세포외막에 존재하는 내독소로 잘 알려진 lipopolysaccharide(LPS)는 대식세포 또는 단핵구를 자극하여 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6와 같은 염증 매개성 사이토카인들의 분비를 촉진하며 이러한 염증 매개 물질들의 형성은 NO의 대량 생성에 관여하게 된다.¹⁶⁾ 이에 따라 시료의 항염 활성을 확인하기 위하여 대식세포에 LPS 자극을 가하고 NO 및 전염증성 사이토카인 생성 억제 효과를 확인하는 방

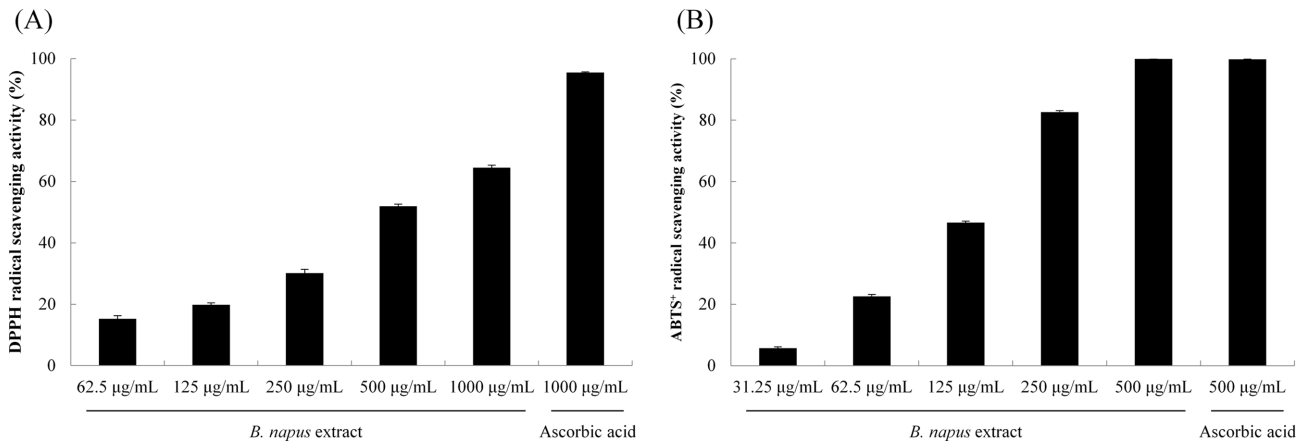


Fig. 1. DPPH(A) and ABTS⁺(B) radical scavenging activities of extract from *B. napus*.

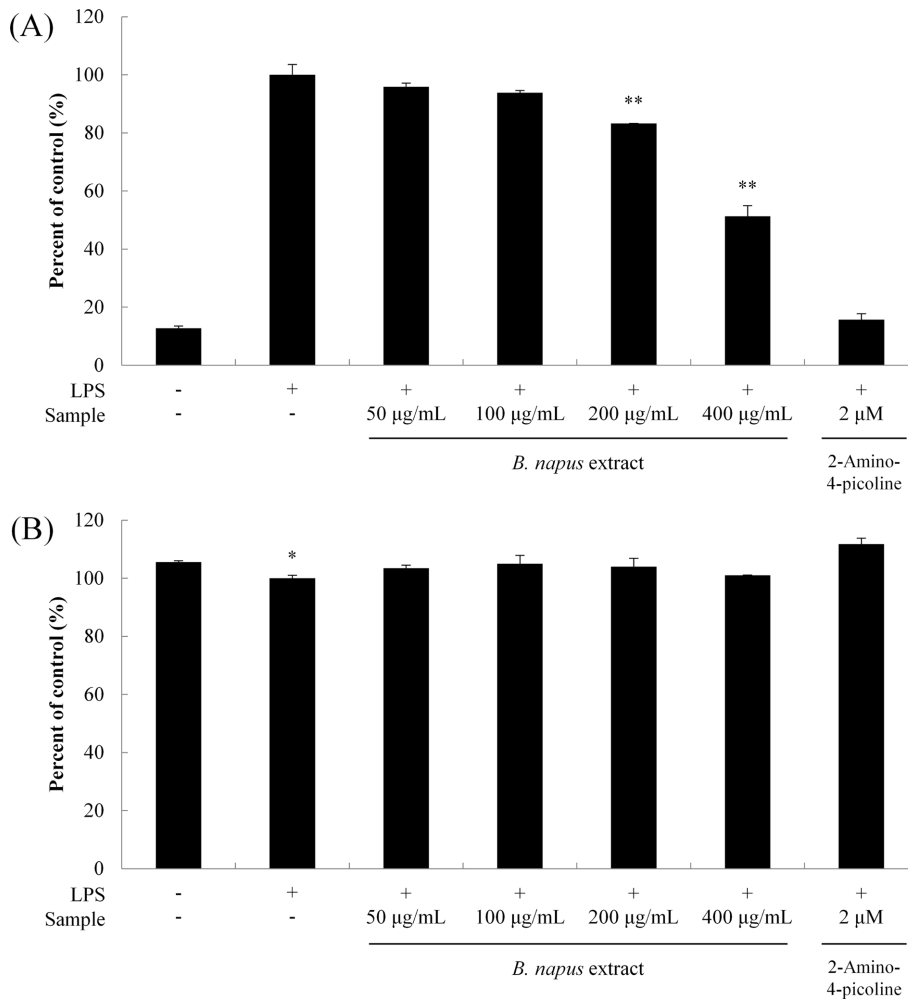


Fig. 2. Effects of extract from *B. napus* on NO production(A) and cell viability(B) in LPS-induced RAW264.7 cells. The data represent the mean ± SD of triplicate experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control.

법을 실시하였다. 유체 추출물을 50, 100, 200, 400 µg/mL 농도로 각각 처리한 실험군의 세포 배양액을 이용하여 NO 생성량을 측정된 결과 농도에 따라 유의적으로 NO 생성

이 저해됨을 확인하였다. 또한 400 µg/mL 농도 처리군에서는 세포 독성 없이 약 50% 정도의 NO 생성을 억제하였다(Fig. 2).

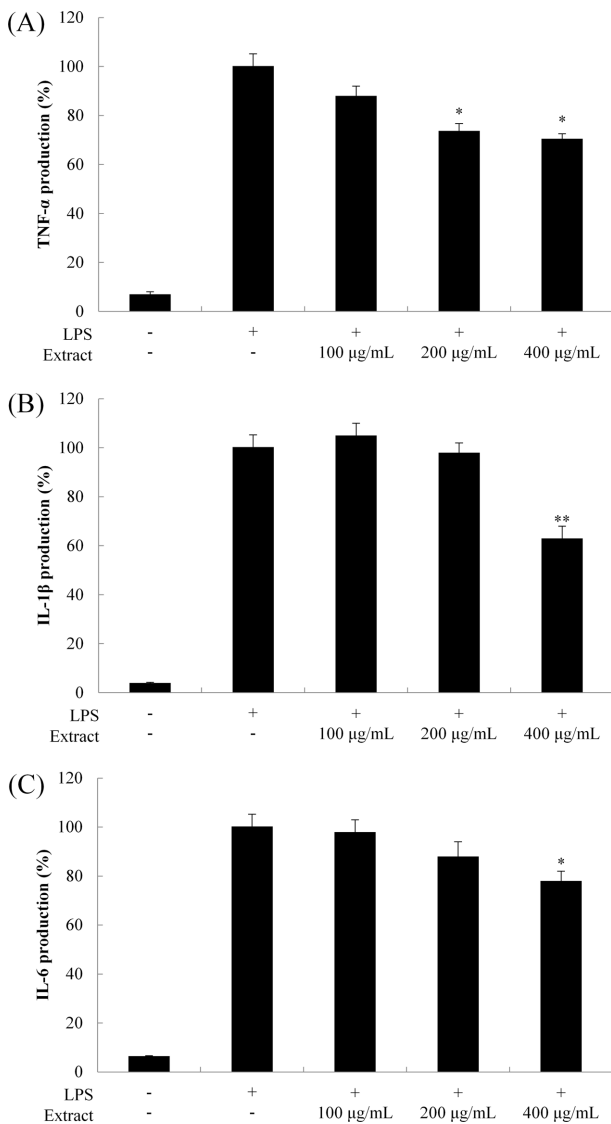


Fig. 3. Effects of extract from *B. napus* on TNF- α (A), IL-1 β (B) and IL-6(C) production in LPS-induced RAW264.7 cells. TNF- α , IL-1 β and IL-6 produced and released into the culture medium was assayed using the ELISA method. The data represent the mean \pm SD of triplicate experiments. * p <0.05, ** p <0.01 compared with control.

전염증성 사이토카인(TNF- α , IL-1 β , IL-6) 생성 억제 활성 - NO 생성 억제 활성이 나타난 추출물 100-400 μ g/mL 농도 범위에 대해 추가적인 항염 활성 기전 연구를 위해 ELISA kit를 이용하여 전염증성 사이토카인 생성 억제 활성을 측정하였다. 그 결과, 유채 추출물은 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6의 생성을 농도 의존적으로 감소시키는 효과가 있음을 확인하였다(Fig. 3).

유채 추출물로부터 분리된 화합물의 구조 동정 - 항산화 및 항염 활성이 우수했던 유채 추출물에 대하여 MPLC를 수행하여 단일물질들을 분리하였다. 1 H 및 13 C NMR을 이용하여 화합물의 구조를 확인하였으며, 문헌과 비교하여 2개의 화합물을 동정하였다. 화합물 **2**는 22개의 carbon 피크가 관찰되며 δ_C 56.9 및 δ_H 3.94 (3H, s)의 피크를 통해 methoxy group이 결합되어 있을 것이라 예상하였다. 또한 δ_H 3.44-3.85의 overlap 되어 있는 여러 개의 proton 피크와 당의 anomeric proton에 해당하는 δ_H 5.42 (1H, d, J =7.3 Hz)의 피크를 통해 flavonoid 골격에 육탄당이 하나 결합되어 있는 구조일 것이라 예상하였으며, 문헌¹⁷과 비교하여 isorhamnetin 3-*O*-diglucoside로 확인하였다. 화합물 **1**은 δ_H 5.58 (1H, d, J =7.3 Hz), δ_H 5.08 (1H, d, J =7.3 Hz)에 해당하는 당의 anomeric proton 및 화합물 **2**와 유사한 16개의 피크 외에 12개의 carbon 피크가 더 관찰되는 것으로 보아, 화합물 **2**에 두 개의 육탄당이 결합되어 있는 구조일 것이라 예상하였으며, 문헌¹⁸을 통해 isorhamnetin 3, 7-*O*-diglucoside로 확인되었다(Fig. 4).

유채 추출물의 성분 분석 - 유채 추출물의 주요 성분을 확인하기 위하여 HPLC를 통한 정성 및 정량 분석을 수행하였다. 분석 결과, 분리된 화합물의 머무름 시간(retention time, Rt)은 각각 isorhamnetin 3,7-*O*-diglucoside(**1**) 10.7분, isorhamnetin 3-*O*-glucoside(**2**) 20.5분으로 확인되었다. 유채 유래 성분들의 함량은 농도(x축)와 피크의 면적비(y축)에 대한 검정곡선을 작성하고 회귀직선방정식에 대입하여 각각의 성분 함량을 산출하였다. 그 결과 유채 에탄올 추출물에서 isorhamnetin 3,7-*O*-diglucoside(**1**), isorhamnetin 3-*O*-glucoside(**2**)이 각각 66.6, 11.9 mg/g이 함유되어 있는 것으로

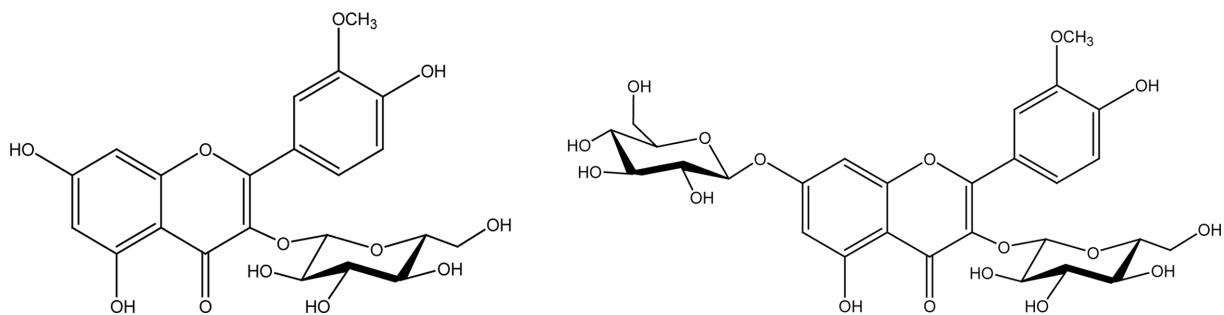


Fig. 4. Isolated compounds **1-2** from *B. napus*.

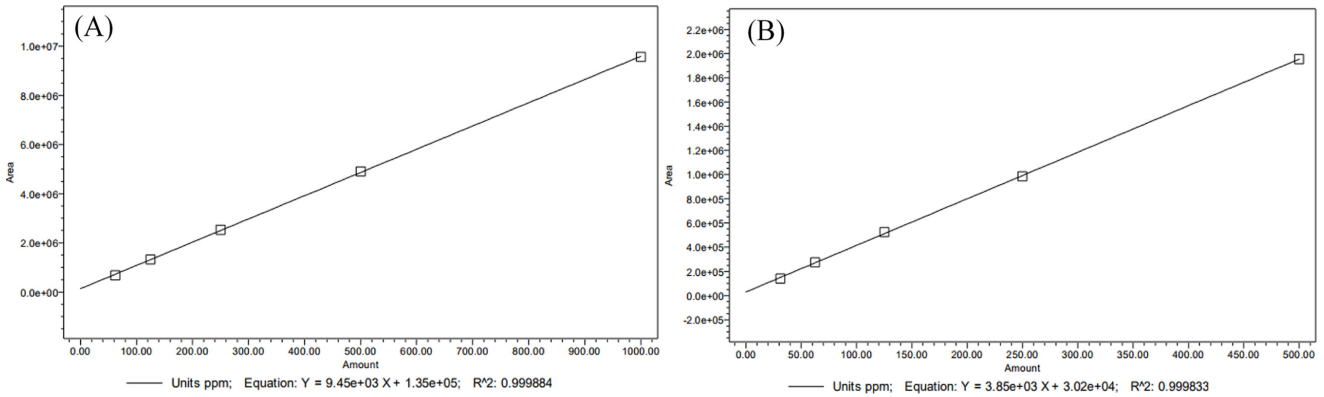


Fig. 5. Calibration curve of isolated compounds 1(A) and 2(B).

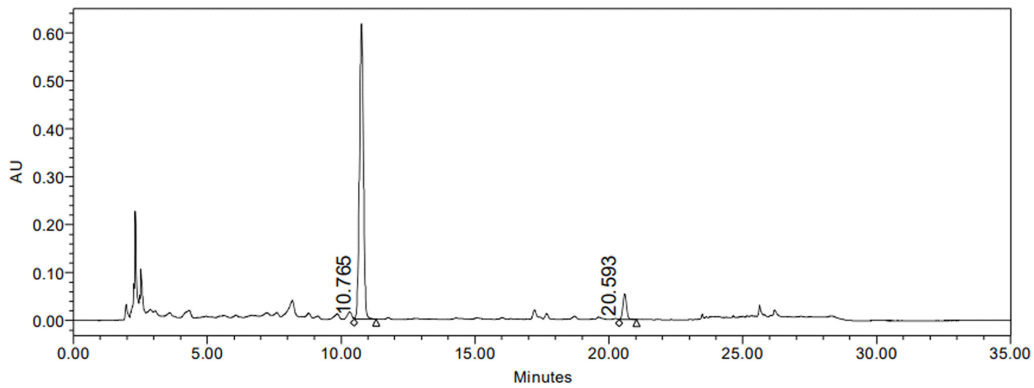


Fig. 6. HPLC chromatogram of extract from *B. napus* at 250 nm(compound 1, Rt: 10.765 min; compound 2, Rt: 20.593 min).

확인되었다(Fig. 5, 6).

유체 추출물로부터 분리된 화합물의 항산화 활성 - 유체 추출물에서 분리된 화합물 1, 2의 DPPH 라디칼 소거 활성 정도를 평가하기 위하여 시료를 62.5, 125, 250, 500, 1000

μM의 농도로 처리하였고 양성대조군인 ascorbic acid를 같은 농도로 실험하였다. 그 결과 1000 μM 농도의 처리군에서 화합물 1, 2는 각각 50.3%, 44.3%의 DPPH 라디칼 소거 활성이 있음을 확인하였다(Fig. 7).

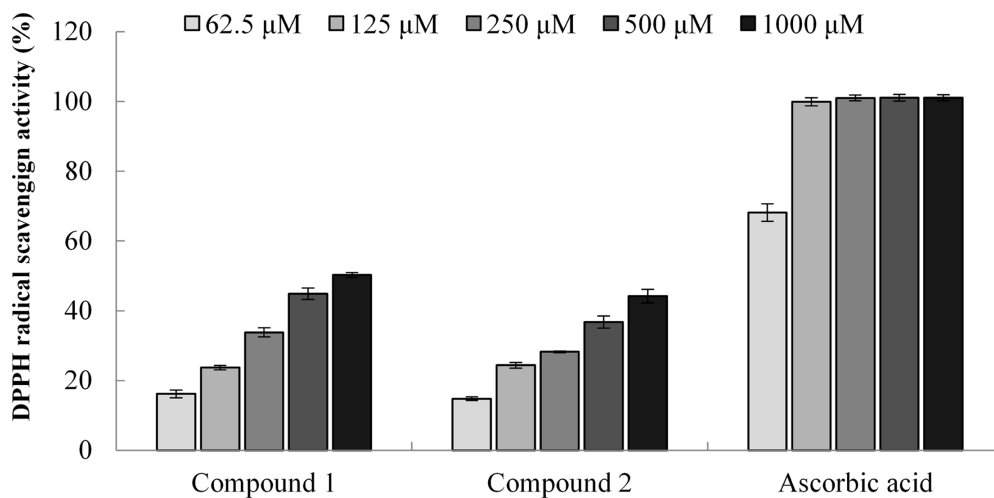


Fig. 7. DPPH radical scavenging activities of isolated compounds from *B. napus*.

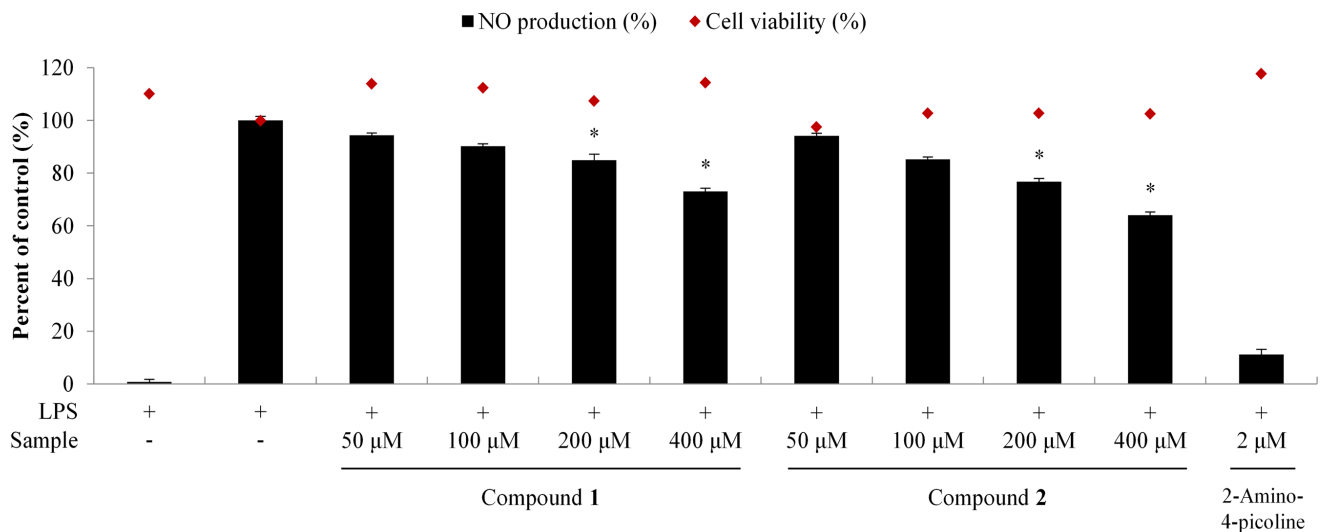


Fig. 8. Effects of isolated compounds from *B. napus* on NO production and cell viability in LPS-induced RAW264.7 cells. The data represent the mean \pm SD of triplicate experiments. * p <0.05, ** p <0.01 compared with control.

유채 추출물로부터 분리된 화합물의 항염 활성 – 유채 추출물에서 분리된 화합물에 대한 항염 활성을 측정하기 위해 RAW264.7 cell을 이용하여 NO 생성 억제 활성 및 세포 독성 평가를 진행하였다. 분리된 화합물을 50, 100, 200, 400 μ M 농도로 각각 처리한 실험군의 세포 배양액을 이용하여 NO 생성량을 측정한 결과 농도에 따라 화합물 모두 NO의 생성을 저해하는 것으로 확인되었다. 400 μ M 농도 처리군에서는 화합물 **1**, **2**는 세포 독성 없이 NO의 생성을 약 30% 이상 감소시키는 것으로 나타났다(Fig. 8). 현재까지 이들은 항염 활성 기전 연구가 되어 있지 않아 세포 독성이 없는 범위에서 추가적인 실험이 필요할 것으로 사료된다.

결 론

최근 식품 및 화장품 시장의 소비자 의식수준이 높아지면서 체내에 영향을 미치는 생물학적 부분에 보다 특이적으로 작용하여 적은 양으로도 높은 기능성을 가지는 천연물 발굴에 많은 관심이 집중되고 있다. 새로운 기능성 소재 개발에 대한 요구 또한 증가하고 있는 추세로 피부 친화적이고 안전한 식물추출물을 대상으로 효과를 확인하는 연구가 활발하게 진행되고 있다.¹⁹⁻²¹⁾ 유채(*B. napus*)는 성장 속도가 빠르고 추위와 습기에 잘 견디는 식물로 국내 전역에 재배되고 있으며 수확량이 많다. 종자 수확 후 유채의 나머지 부산물들은 폐기되고 있으며 종자, 꽃, 유채박 이외 부위에 대한 생리활성 및 성분 연구는 많이 알려지지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 유채 전초를 이용하여 기능성 원료 소재로 활용 가능성을 확인하고자 하였다.

우선 유채 에탄올 추출물의 항산화 활성을 측정된 결과,

우수한 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거 활성을 확인하였다. 또한 항염 활성 실험 결과 유채 추출물이 50-400 μ g/mL 농도 범위에서 세포에 대한 독성 없이 NO의 생성을 농도의존적으로 저해시키는 효과가 있음을 확인하였다. 추가적인 기전 연구를 위해 전염증성 사이토카인 생성 억제 활성을 측정된 결과 TNF- α , IL-1 β 및 IL-6의 생성을 모두 저해시키는 것을 확인하였다. 이와 같은 결과를 바탕으로 우수한 활성을 나타낸 에탄올 추출물의 주요 성분을 찾고자 MPLC를 수행하여 2개의 단일물질을 분리하였다. 분리된 화합물은 ¹H 및 ¹³C NMR을 이용해 구조를 동정하였으며 문헌과 비교하여 isorhamnetin 3,7-*O*-diglucoside(**1**), isorhamnetin 3-*O*-glucoside(**2**)으로 확인하였다. 또한 유채 추출물을 HPLC 분석한 결과 isorhamnetin 3,7-*O*-diglucoside(**1**), isorhamnetin 3-*O*-glucoside(**2**)의 함량이 각각 66.6, 11.9 mg/g으로 확인되었으며 분리된 화합물에 대한 항산화 및 항염 실험 결과, 화합물 **1**, **2** 모두 농도 의존적으로 라디칼 소거 및 NO의 생성 억제 효과가 나타남을 확인하였다.

본 연구를 통해 유채 전초 추출물의 주요 성분은 isorhamnetin 3,7-*O*-diglucoside(**1**)로 확인되었으며, 분리된 화합물의 항산화 및 항염 효과는 유채 추출물의 활성 결과와 관련이 있을 것으로 예상된다. 이상의 연구 결과를 바탕으로 유채 추출물은 항산화 및 항염 효과를 갖는 천연 기능성 소재로의 개발이 가능할 것이라 사료된다.

사 사

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원의 “지역혁신클러스터육성(R&D, P0015361)”사업의 지원을 받아

수행된 연구결과임.

인용문헌

1. Lee, H. S. and Shin, M. S. (2015) Antimicrobial effects of *Luffa cylindrica* extract against 4 skin microorganisms. *J. Kor. Soc. Cosmet.* **21**: 471-476.
2. Tizard, I. R. (2017) *Veterinary immunology*, Elsevier Health Sciences.
3. Jung, H. (2011) Master's thesis dissertation, Chung-Ang Univ., Seoul, Korea.
4. Bak, J. P., Son, J. H., Kim, Y. M., Lee, E. Y., Leem, K. H. and Kim, E. H. (2011) Suppression of inflammatory macrophage response by *Glycyrrhiza uralensis* herbal acupuncture extract. *Korean Journal of Acupuncture* **28**: 49-58.
5. Kim, Y. S., Lee, S. J., Hwang, J. W., Kim, E. H., Park, P. J. and Jeong, J. H. (2012) Anti-inflammatory effects of extracts from *Ligustrum ovalifolium* H. leaves on RAW264.7 macrophages. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 1205-1210.
6. Bae, S. J. (2004) Studies on the antioxidative and antimicrobial effects of *Chondria crassicaulis*. *Journal of Life Science* **14**: 411-416.
7. Kim, I. S., Kwon, T. B. and Oh, S. K. (1988) Study on the chemical change of general composition, fatty acids and minerals of rapeseed during germination. *Korean Journal of Food Science and Technology* **20**: 188-193.
8. Lee, A. Y., Hong, S. T., Jang, Y. S. and Lee, J. H. (2014) Lipid composition of Korean rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivar and antioxidant capacity of phenolic extract. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* **43**: 1817-1826.
9. Hyun, E. A., Kang, J. S., Yang, K. W., Kim, S. Y., Kim, S. C., Lee, W. J., Lee, N. H. and Hyun, C. G. (2016) Anti-inflammatory potential of rape flower in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Oriental Journal of Chemistry* **32**: 1749-1757.
10. Shahreza, E. D. (2016) *Brassica napus* and diabetic complications. *Journal of Nephrotoxicology* **5**: 106-107.
11. Chun, H. K., Choi, N. S., Park, S. Y. and Yoo, B. S. (2004) Effect of edible flower extracts on antioxidative and biological activities. *Korean J. Community Living Science* **15**: 67-76.
12. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1199-1200.
13. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* **26**: 1231-1237.
14. Yeom, H. S., Lee, N. H. and Hyun, J. M. (2018) Anti-oxidative activities for the flavonoids of the *Syzygium aqueum* Burm.f. Alston branches from Jeju island. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea* **44**: 151-159.
15. Jeong, J. B., Hong, S. C., Jeong, H. J. and Koo, J. S. (2012) Anti-inflammatory effects of ethyl acetate fraction from *Cnidium officinale* Makino on LPS-stimulated RAW 264.7 and THP-1 cells. *Korean J. Plant Res.* **25**: 299-307.
16. Kim, D. H., Park, S. J., Jung, J. Y., Kim, S. C. and Byun, S. H. (2009) Anti-inflammatory effects of the aqueous extract of Hwangnyenhaedoktang in LPS-activated macrophage cells. *Korean J. Herbol.* **24**: 39-47.
17. Lee, J. W., Kang, S. C., Bae, J. J., Lee, K. B. and Kwak, J. H. (2015) Flavonoids from the flower of *Clerodendrum trichotomum*. *Kor. J. Pharmacogn.* **46**: 289-294.
18. Tohr, K., Hidekatsu, I., Tetsuro, K., Takashi, Y. and Hiroshi, N. (1990) Glucosylation of quercetin by a cell suspension culture of *Vitis* sp. *Agricultural and Biological Chemistry* **54**: 3283-3288.
19. Jung, S. K. and Lee, K. W. (2012) Industrial status of oriental medicine cosmetics. *Food Science and Industry* **45**: 45-50.
20. Kim, K. D. and Kim, S. J. (2007) Studies on the antimicrobial effects of herbal extracts and its cosmetic application. *J. Kor. Soc. Cosmet.* **13**: 221-227.
21. Lee, S. Y. and Seo, H. S. (2007) The effects of sulfur extract on anti-inflammation and anti-propionibacterium acnes. *J. Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology* **20**: 68-76.

(2022. 7. 28 접수; 2022. 8. 26 심사; 2022. 9. 22 게재확정)