

## 식용식물자원으로부터 활성물질의 탐색 -XX. 순무 (*Brassica campestris* ssp *rapa*) 뿌리로부터 지질화합물의 분리

방면호<sup>1</sup> · 이대영<sup>1</sup> · 한민우<sup>1</sup> · 오영준<sup>1</sup> · 정해곤<sup>2</sup> · 정태숙<sup>3</sup> · 최명숙<sup>4</sup> · 이경태<sup>5</sup> · 백남인<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터, <sup>2</sup>강화군 특화작목연구소, <sup>3</sup>한국생명공학연구원 지질대사연구실,  
<sup>4</sup>경희대학교 약학대학 약품생화학교실, <sup>5</sup>경북대학교 식품영양학과 영양생화학실

## Development of Biologically Active Compounds from Edible Plant Sources -XX. Isolation of Lipids from the Roots of *Brassica campestris* ssp *rapa*

Myun-Ho Bang<sup>1</sup>, Dae-Young Lee<sup>1</sup>, Min-Woo Han<sup>1</sup>, Young-Jun Oh<sup>1</sup>, Hae-Gon Chung<sup>2</sup>, Tae-Sook Jeong<sup>3</sup>,  
Kyung-Tae Lee<sup>4</sup>, Myung-Sook Choi<sup>5</sup>, and Nam-In Baek<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Biotechnology & Plant Metabolism Research Center, Kyung Hee University, Suwon 446-701, Korea

<sup>2</sup>Ganghwa Agricultural R&D Center, Incheon 417-833, Korea

<sup>3</sup>National Research Laboratory of Lipid Metabolism & Atherosclerosis, KRIBB, Daejeon 305-333, Korea

<sup>4</sup>Department of Biochemistry, College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

<sup>5</sup>Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Received June 12, 2007; Accepted July 11, 2007

The roots of *Brassica campestris* ssp *rapa* were extracted with 80% aqueous MeOH, and the concentrated extract was partitioned with EtOAc, *n*-BuOH and H<sub>2</sub>O. From the EtOAc and *n*-BuOH fractions, five compounds were isolated through the repeated silica gel column chromatographies. From the result of spectroscopic data including NMR and MS, the chemical structures of the compounds were determined as palmitic acid methyl ester (1), linolenic acid methyl ester (2), linoleic acid methyl ester (3),  $\beta$ -sitosterol (4) and daucosterol (5).

**Key words:** *Brassica campestris* ssp *rapa*, linolenic acid methyl ester, linoleic acid methyl ester, palmitic acid methyl ester,  $\beta$ -sitosterol, daucosterol

### 서 론

순무는 양귀비목 십자화과(배추과)의 두해살이 풀로서 뿌리와 잎을 식용 할 수 있는 채소이다. 여름철에 파종하고, 가을에 발아하며, 월동한 다음해 봄에 꽃줄기가 자란 후 노란 십자꽃이 핀다. 모양은 팽이와 유사하고 껍질 색은 적자색 또는 녹색을 띠며 무우보다 순한 맛을 지니나 무우와는 다른 독특한 맛을 나타낸다. 원산지는 중앙아시아와 유럽 남부지방이며, 기원은 지중해연안에 자생하는 잡초 유채(*Brassica campestris* L.)라고 알려져 있으며, 우리나라에 도입된 시기는 정확히 알 수 없으나 고려 중엽 이규보의 가포육영(家圃六詠)에 순무를 재료로 한 김치가 우리나라 문헌상 최초로 등장한다.<sup>1)</sup> 현재 우리나라에서는 강화도 등지에서 특산물로 널리 재배 되고 있으며 주로 김치의 원료로 활용되고 있다.

효능으로는 개위(開胃), 하기(下氣), 이습(利濕), 해독, 식체, 황달, 당뇨병에 치료 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 주요 약리작용으로 세균, 진균, 효모 및 수종의 기생충을 억제하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 순무에 관한 성분연구로는 순무 잎에 포함된 휘발성 isothiocyanate 연구,<sup>3)</sup> 순무의 glucosinolate 성분의 휘발성 isothiocyanate와 nitrile에 대한 연구,<sup>4)</sup> 가열 전,후 순무의 glucosinolate의 함량의 변화,<sup>5)</sup> myrosinase 활성,<sup>6)</sup> 지질, indole 및 cinnamic acid 유도체의 분리동정에 대하여 보고된 바 있다.<sup>7)</sup> 저자는 강화도 특화작목인 순무로부터 성분분석 및 생리활성 검증을 통하여 순무를 이용한 기능성 식품 개발방안을 모색하고자 이 실험을 수행하였다.

### 재료 및 방법

**실험재료.** 본 실험에 사용한 순무는 2005년도 5월 강화군 농업기술센터로부터 제공받았고, 강화군 강화특화작목연구소 정해곤 박사가 동정하였으며, 표본시료(KHU-050512)는 경희대학교 생명공학원 천연물화학실에 보관되어 있다.

\*Corresponding author  
Phone: +82-31-201-2661; Fax: +82-31-201-2157  
E-mail: nibaek@khu.ac.kr

**시약 및 기기.** Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(Merck, Darmstadt, Germany)을 octadecyl silica(ODS) gel은 LiChroprep RP-18(Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였다. Thin layer chromatography(이하 TLC라고 함)는 Kieselgel 60 F<sub>254</sub>와 RP-18 F<sub>254S</sub>를 사용하였고, 실험에 이용한 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

NMR 스펙트럼은 Varian Inova AS 400(Varian, California, USA)으로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin model 599B(Perkin-Elmer, Massachusetts, USA)로 측정하였다. 녹는점은 Fisher-John's Melting Point Apparatus(Fisher Scientific, Miami, USA)로 측정하였으며, EI/MS와 FAB/MS는 JMS-700(JEOL, Tokyo, Japan)으로 측정하였다. GC는 GC-14B(Shimadzu, Tokyo, Japan)로, GC/MS는 JMS-700(JEOL, Tokyo, Japan)으로 측정하였으며, UV lamp는 Spectroline(Model ENF-240 C/F, Spectronics Corporation, New York, USA)을 사용하였으며, 비선광도는 Polarimeter P-1020(JASCO, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다.

**EtOAc 분획으로부터 활성물질의 분리.** 순무(*Brassica campestris ssp rapa*) 뿌리부분 생체 중 100 kg을 껍질과 속 부분을 구분하고 세절하여 속부분(48 kg)을 MeOH 80% 수용액(18 l×5)으로 두 차례 걸쳐 추출한 후 여과지로 여과를 하였다. 얻어진 여액을 45°C에서 감압농축하여 MeOH 추출물을 얻었다. 얻어진 MeOH 추출물을 EtOAc(3 l×2)/H<sub>2</sub>O(3 l)로 분배 추출하였고, 다시 H<sub>2</sub>O층을 *n*-BuOH(3 l×2)/H<sub>2</sub>O(3.2 l)로 분배 추출 하였다. 각 층을 감압농축하여 EtOAc(15 g), *n*-BuOH(48 g) 및 H<sub>2</sub>O 분획을 얻었다.

EtOAc분획에 대하여 silica gel column chromatography(c.c.) (φ5×22 cm, *n*-hexane-EtOAc = 10 : 1 → 5 : 1 → 3 : 1 → 1 : 1 → CHCl<sub>3</sub>-MeOH = 10 : 1 → 7 : 1 → 5 : 1 → 3 : 1 → 2 : 1 → 1 : 1)를 실시하여 18개의 분획물(BRE-1~BRE-18)을 얻었다. 이 중에서 BRE-5(1.1 g) 분획에 대하여 silica gel c.c.(φ4×13 cm, *n*-hexane-EtOAc = 7 : 1)를 실시하여, 9개의 분획물(BRE5-1~BRE5-9)을 얻었다. 그 중 BRE5-3(125 mg) 분획을 silica gel c.c.(φ2.5×14 cm, *n*-hexane-EtOAc = 15 : 1)로 정제하여 BRE5-3-1[(화합물 1, 23 mg, TLC(Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) R<sub>f</sub> = 0.65, *n*-hexane-EtOAc = 5 : 1)]을 분리 하였다. 또한 BRE5-5(482 mg) 분획을 ODS c.c.(φ3.5×9 cm, acetone-acetonitrile = 3 : 1)로 정제하여 BRE5-5-4[(화합물 4, 32 mg, TLC(RP-18 F<sub>254S</sub>) R<sub>f</sub> = 0.45, acetone-acetonitrile = 5 : 1)]을 분리 하였다. BRE7(400 mg) 분획에 대하여 silica gel c.c.(φ4.5×12 cm, *n*-hexane-EtOAc = 3 : 1)로 정제하여 BRE7-7[(화합물 2, 52 mg, TLC(Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) R<sub>f</sub> = 0.55, *n*-hexane-EtOAc = 1 : 1)]을 분리 하였다. BRE10(218 mg) 분획에 대하여 silica gel c.c.(φ2.5×10 cm, *n*-hexane-EtOAc = 10 : 1)로 정제하여 BRE10-1(화합물 3, 69 mg, TLC(Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) R<sub>f</sub> = 0.5, *n*-hexane-EtOAc = 3 : 1)]을 분리 하였다.

***n*-BuOH 분획으로부터 sterol 의 분리.** *n*-BuOH 분획(48 g)으로부터 silica gel c.c.(φ10×11 cm, CHCl<sub>3</sub>-MeOH = 7 : 1 → 5 : 1 → 3 : 1 → 1 : 1)를 실시하여 분획하였고, 이 분획을 TLC로 확인하여 유사한 것끼리 모아 16개의 분획(BRB-1~BRB-16)으로

나누었다. 그 중에서 BRB-5 분획(61 mg)을 ODS c.c.(φ3×10 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O = 2 : 1)를 실시하여 BRB-5-7(화합물 5, 41 mg, TLC(RP-18 F<sub>254S</sub>) R<sub>f</sub> = 0.55, MeOH-H<sub>2</sub>O = 3 : 1)]을 분리 하였다.

화합물 1(palmitic acid methyl ester): colorless oil, EI/MS *m/z*: 270 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>H</sub>): 3.63(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.26(2H, t, *J* = 10.0 Hz), 1.98~1.22 [(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, m], 0.84(3H, t, *J* = 7.6 Hz, terminal methyl); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>C</sub>): 170.5(ester), 51.5(OCH<sub>3</sub>), 34.7, 34.1, 29.6, 29.5, 29.3(×3), 27.7(×2), 26.63, 26.01, 25.4, 25.5, 23.4(methylene), 14.1(terminal methyl).

화합물 2(linolenic acid methyl ester): Yellow oil, EI/MS *m/z*: 292 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>H</sub>): 5.21(6H, m, olefinic-H), 3.63(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.80(2H, dd, *J* = 6.4 Hz), 2.78(2H, dd, *J* = 6.6, 6.4 Hz), 2.30(2H, t, *J* = 8.4 Hz), 2.07(2H, m), 2.03(2H, dt, *J* = 6.6, 6.7), 1.41(2H, m), 1.36(2H, m), 1.30(2H, m), 1.29(2H, m), 1.27(2H, m), 0.94(3H, t, *J* = 7.8 Hz, terminal methyl); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>C</sub>): 174.9(ester), 131.6, 130.6, 128.7, 128.6, 127.2, 126.4(olefinic-C), 51.5(OCH<sub>3</sub>), 34.9, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 27.4, 25.6, 25.5, 24.9, 20.7(methylene), 14.4(terminal methyl).

화합물 3(linoleic acid methyl ester): Colorless oil, EI/MS *m/z*: 294 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>H</sub>): 5.31(4H, m, olefinic-H), 3.54(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.75(2H, dd, *J* = 6.8, 6.4 Hz), 2.28(2H, t, *J* = 8.6 Hz), 2.05(2H, m), 2.02(2H, dt, *J* = 6.8, 6.5 Hz), 2.01(2H, dt, *J* = 6.5, 6.8 Hz), 1.37(2H, m), 1.36(2H, m), 1.31(2H, m), 1.28(2H, m), 1.25(2H, m), 1.24(2H, m), 1.23(2H, m), 1.22(2H, m), 0.88(3H, t, *J* = 7.0 Hz, terminal methyl); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>C</sub>): 173.7(ester), 129.7, 129.6, 127.8, 127.6(olefinic-C), 51.2(OCH<sub>3</sub>), 34.1, 31.6, 29.9, 29.8, 29.5, 29.4, 29.3, 27.6, 25.5, 25.3, 24.9, 22.7(methylene), 14.1(terminal methyl).

화합물 4(β-sitosterol): white powder(*n*-hexane-CHCl<sub>3</sub>); m.p. 140~142°C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -28.7°C(*c* = 0.2, CHCl<sub>3</sub>); EI/MS *m/z*: 414 [M]<sup>+</sup>; IR (KBr, ν) 3400, 1640, 1050, 845, 802, 830 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>H</sub>): 5.32(1H, br. d, *J* = 4.8 Hz, H-6), 3.47(1H, m, H-3), 0.94(3H, s, H-19), 0.90(3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.87(3H, t, *J* = 7.4 Hz, H-29), 0.86(3H, d, *J* = 7.4 Hz, H-26), 0.77(3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27), 0.64(3H, s, H-18); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ<sub>C</sub>): 140.7(C-5), 121.7(C-6), 71.8(C-3), 56.7(C-14), 56.1(C-17), 50.4(C-9), 45.19(C-24), 42.3(C-4), 41.9(C-13), 39.7(C-12), 37.2(C-1), 36.5(C-10), 36.1(C-20), 33.8(C-22), 31.6(C-2), 31.9(C-7), 31.8(C-8), 29.1(C-25), 28.3(C-16), 25.2(C-23), 24.3(C-15), 23.1(C-28), 21.1(C-11), 19.8(C-19), 19.4(C-26), 19.1(C-27), 18.9(C-21), 12.1(C-29), 11.9(C-18).

화합물 5(daucosterol): colorless crystals(pyridine-MeOH-H<sub>2</sub>O); m.p. 282~288°C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -29.0°C(*c* = 0.8, pyridine); pos. FAB/MS *m/z*: 577 [M+H]<sup>+</sup>; IR(KBr, ν) 3318, 3020, 2937, 1640 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>N, δ<sub>H</sub>): 5.21(1H, br. d,

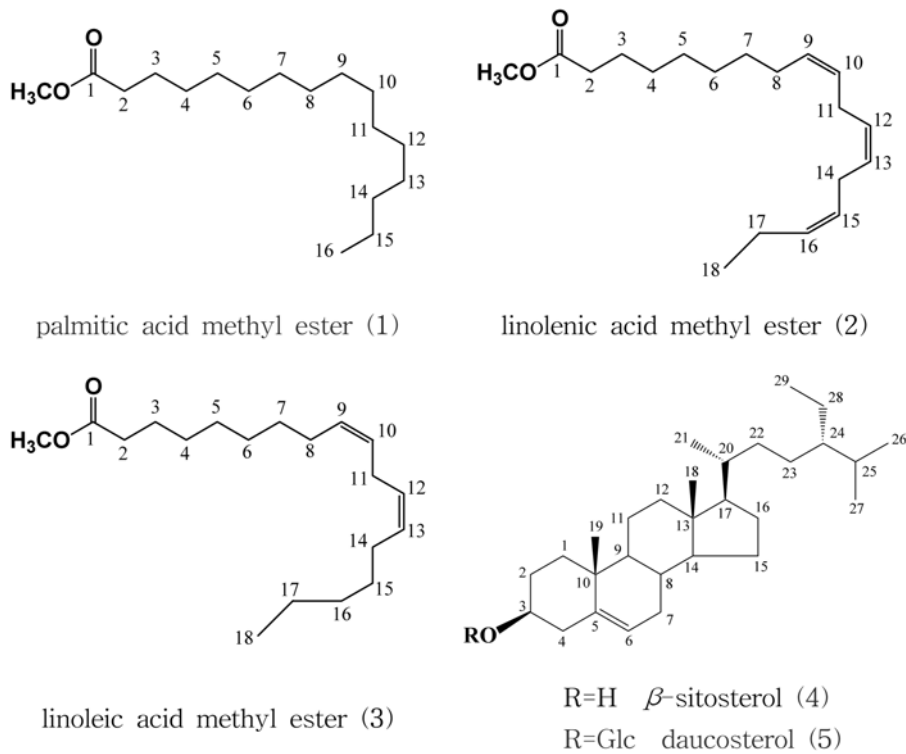


Fig. 1. Chemical structures of lipids and sterol from the *Brassica campestris* ssp *rapa*.

$J=4.8$  Hz, H-6), 5.04(1H, d,  $J=7.6$  Hz, H-1'), 3.42(1H, m, H-3), 0.98(3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-21), 0.93(3H, s, H-19), 0.83(3H, d,  $J=7.6$  Hz, H-26), 0.88(3H, d,  $J=7.2$  Hz, H-27), 0.84(3H, t,  $J=7.2$  Hz, H-29), 0.64(3H, s, H-18);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ,  $\delta_c$ ) 140.9(C-5), 121.6 (C-6), 102.6(C-1'), 78.7(C-3'), 78.3(C-5'), 78.2(C-3), 75.4(C-2'), 71.5(C-4'), 61.9 (C-6'), 56.5(C-14), 56.4(C-17), 50.5(C-9), 45.4(C-24), 42.4(C-13), 40.1(C-4), 39.4(C-12), 38.3(C-1), 37.1(C-10), 36.5(C-20), 34.4(C-22), 32.3(C-7), 32.2(C-8), 30.4(C-2), 29.7(C-25), 28.7 (C-16), 25.6(C-23), 24.5(C-15), 22.9(C-28), 21.4(C-11), 20.2 (C-27), 19.4(C-19), 19.3(C-26), 19.2(C-21), 12.3(C-29), 12.2 (C-18).

**화합물 1, 2 및 3의 GC/MS 분석.** 시료 BRE5-3-1(화합물 1, 1 mg/1 ml), BRE7-7(화합물 2, 1 mg/1 ml) 및 BRE10-1(화합물 3, 1 mg/1 ml)로부터 각 3  $\mu\text{l}$ 를 취하여, FID가 설치된 GC (GC-14B, Shimadzu, Tokyo, Japan)의 주입구에 넣고, 탈착시켜 분석하였다. 분석용 컬럼은 DB-5(30 m $\times$ 0.32 mm ID $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ , J & W, Folsom, California, USA)를 사용하였으며, GC의 injector 온도는 300 $^\circ\text{C}$ , oven 온도는 처음 3분 동안 150 $^\circ\text{C}$ 로 유지하였고, 승온 속도를 7 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 으로 하여 최종온도가 300 $^\circ\text{C}$ 가 되도록 한 후 5분간 300 $^\circ\text{C}$ 를 유지하도록 하였다. 분석한 화합물 1, 2 및 3의 Retention time(min)은 각각 9.72(1), 10.84 (2), 13.55(3)으로 나타났다. 분석한 화합물을 동정하기 위하여, GC(Agilent technologies, California, USA)와 연결된 mass spectrometer(JMS-700, JEOL, Tokyo, Japan)를 사용하였고, 분석용으로 사용한 컬럼(HP-5, 30 m $\times$ 0.32 mm ID $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ , USA) 이외의 모든 분석 조건은 GC 조건과 동일하였다. GC로

분석한 각 peak의 최종적인 확인은 GC-MS의 library 분석을 바탕으로 확인하였다.

### 결과 및 고찰

강화특화작목의 생리활성 탐색 및 효능 검증 연구에 선행하여, 순무(*Brassica campestris* ssp *rapa*)뿌리 껍질을 제거한 속 부분 48 kg을 80% MeOH용액으로 실온에서 하루 동안 추출하기를 2번 반복하였다. 용매 극성의 차이에 따라 계통 분획 하여 세가지 분획 즉 EtOAc, *n*-BuOH 및  $\text{H}_2\text{O}$ 분획을 얻었다. EtOAc분획과 *n*-BuOH분획에 대하여 TLC를 이용하여 함유성분을 추정하였으며, silica gel과 ODS column chromatography를 반복하여 3종의 지질화합물과 2종의 sterol화합물을 분리하였다.

화합물 1(colorless oil)은 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 없고, 10% 황산을 분무, 건조 한 후 발색한 결과 연한 갈색으로 발색되었다.  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum에서  $\delta_{\text{H}}$  3.63(3H, s)에서 methoxy proton이 관측되었고,  $\delta_{\text{H}}$  2.26(2H, t,  $J=10.0$  Hz)에서 allyl methylene proton과  $\delta_{\text{H}}$  1.22~1.98 사이에서 다수의 methylene proton signal이 관측되었다. 또한  $\delta_{\text{H}}$  0.84(3H, t,  $J=7.6$  Hz)에서 terminal methyl proton이 관측되어 지방산 화합물로 추측되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum에서 17개의 탄소 signal이 관측되었고,  $\delta_c$  170.5에서 carbonyl carbon과  $\delta_c$  51.5에서 methoxy기가 관측되었다.  $\delta_c$  34.7과  $\delta_c$  23.4 사이에서 14개의 methylene signal과  $\delta_c$  14.1에서 terminal methyl signal이 확인되었다. 따라서 정확한 구조 동정을 위하여 GC/MS를 이용하여 분석한 결과 5분 3

초에서 단일 peak가 관측되었으며, 이 화합물의 EI/MS spectrum에서  $M^+$  이온 peak가  $m/z$  270에서 관측되어 270으로 결정하였고, 이것을 library와 비교해본 결과 palmitic acid methyl ester와 일치 하였다.

화합물 2(Yellow oil)은 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 없고, 10% 황산을 분무, 건조 한 후 발색한 결과 연한 갈색으로 발색되었다.  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum에서  $\delta_{\text{H}}$  5.21(6H, m)의 signal로부터 olefinic methine proton 6개가 존재함을 확인하였고,  $\delta_{\text{H}}$  3.64(3H, s)의 signal로부터 methoxy의 존재를 확인 하였다.  $\delta_{\text{H}}$  2.80(2H, dd,  $J=6.4$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  2.78(2H, dd,  $J=6.6, 6.4$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  2.30(2H, t,  $J=8.4$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  2.07(2H, m) 및  $\delta_{\text{H}}$  2.03(2H, dt,  $J=6.6, 6.7$ )의 signal로부터 allyl 위치의 methylene이 관측되었으며,  $\delta_{\text{H}}$  1.41~1.27 사이에서 다수의 methylene proton signal과  $\delta_{\text{H}}$  0.98(3H, t,  $J=7.8$  Hz)에서 triplet의 말단 methyl proton signal이 관측되었다. 따라서 이 화합물은 세 쌍의 이중결합을 갖고 있는 aliphatic chain 형태의 화합물로 판단되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum에서 19개의 탄소 signal이 관측되었다.  $\delta_{\text{C}}$  174.9에서 ester carbon과, 131.6, 130.6, 128.7, 128.6, 127.2, 126.4에서 6개의 olefinic carbon 그리고  $\delta_{\text{C}}$  51.5에서 methoxy기가 관측되었다.  $\delta_{\text{C}}$  34.9~20.7 사이에서 methylene signal과  $\delta_{\text{C}}$  14.4에서 terminal methyl signal이 확인되었다. 따라서 화합물 2은 octadecatrienoic acid methyl ester로 구조를 규명하였다. 또한 GC/MS를 이용하여 분석한 결과 5분 20초에서 단일 peak가 관측되었으며, 이 화합물의 EI/MS spectrum에서  $M^+$  이온 peak가  $m/z$  292에서 관측되었다. 이 결과를 토대로 library를 검색한 결과 화합물 2를 linolenic acid의 methyl ester로 동정하였다.<sup>8)</sup>

화합물 3(Colorless oil)은 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 없고, 10% 황산을 분무, 건조 한 후 발색한 결과 연한 갈색으로 발색되었다.  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum에서  $\delta_{\text{H}}$  5.31(4H, m)의 signal로부터 olefinic methine proton 4개가 존재함을 확인하였고,  $\delta_{\text{H}}$  3.54(3H, s)에서 나타난 수소수 3개의 methoxy기와  $\delta_{\text{H}}$  2.75(2H, dd,  $J=6.8, 6.4$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  2.28(2H, t,  $J=8.6$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  2.02(2H, dt,  $J=6.8, 6.5$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  2.01(2H, dt,  $J=6.5, 6.8$  Hz)에서 allyl 위치의 methylene signal이 관측되었으며,  $\delta_{\text{H}}$  1.37~1.22에서 다수의 methylene이 그리고  $\delta_{\text{H}}$  0.88(3H, t,  $J=7.0$  Hz)에서 triplet의 말단 methyl proton signal로부터 지방산 분자임을 추측할 수 있었다.  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum에서 탄소수가 19개였으며, carbonyl에서 비롯한 1개 탄소( $\delta_{\text{C}}$  173.7)와 4개의 olefinic methine 탄소( $\delta_{\text{C}}$  129.7, 129.6, 127.8, 127.6) 그리고  $\delta_{\text{C}}$  51.2에서 methoxy기와 12개의 methylene 탄소가  $\delta_{\text{C}}$  34.1과  $\delta_{\text{C}}$  22.7 사이에서 관측되었으며,  $\delta_{\text{C}}$  14.4에서 terminal methyl 탄소가 관측되어 탄소수 18개의 linoleic acid에 methyl기가 ester 형태로 결합된 물질임을 알 수 있었다. 또한 GC/MS를 이용하여 분석한 결과 5분 13초에서 단일 peak가 관측되었으며, 이 화합물의 EI/MS spectrum에서  $M^+$  이온 peak가  $m/z$  294에서 관측되었다. 이 결과를 토대로 검색한 결과 화합물 3을 linoleic acid의 methyl ester로 동정하였다.<sup>9)</sup>

화합물 4(white powder)은 TLC에 전개하고, 10% 황산을 분무, 건조 한 후 발색한 결과 붉은색으로 발색되었다.  $^1\text{H-NMR}$  스펙트럼에서  $\delta_{\text{H}}$  5.32(1H, br. d,  $J=4.8$  Hz, H-6) signal로부터 1개의 olefinic methine을 확인하였고,  $\delta_{\text{H}}$  3.47(1H, m, H-3) signal로부터 oxygenated methine을 확인하였다. 또한  $\delta_{\text{H}}$  2.32~1.00 사이에서 다수의 methylene과 methine proton signal을 관측 하였고,  $\delta_{\text{H}}$  0.64(3H, s),  $\delta_{\text{H}}$  0.94(3H, s)에서 2개의 singlet,  $\delta_{\text{H}}$  0.77(3H, d,  $J=6.8$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  0.86(3H, d,  $J=7.4$  Hz) 및  $\delta_{\text{H}}$  0.90(3H, d,  $J=6.4$  Hz)에서 3개의 doublet 그리고  $\delta_{\text{H}}$  0.87(3H, t,  $J=7.4$  Hz)에서 1개의 triplet methyl proton signal을 확인 하였다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서 탄소수가 29개이고 methyl carbon이 6개 관측된 점으로부터 sterol화합물인 것을 확인하였다.  $\delta_{\text{C}}$  140.7,  $\delta_{\text{C}}$  121.7 signal로부터 1개의 이중 결합이 존재하는 것과  $\delta_{\text{C}}$  71.8로부터 oxygenated methine carbon을 확인 하였다. 또한  $\delta_{\text{C}}$  19.8,  $\delta_{\text{C}}$  19.4,  $\delta_{\text{C}}$  19.1,  $\delta_{\text{C}}$  18.9,  $\delta_{\text{C}}$  12.1,  $\delta_{\text{C}}$  11.9에서 6개의 methyl carbon을 확인하였다. 이를 종합하여 비교한 결과 화합물 4은 여러 가지 식물에서 널리 함유되어 있는 sterol인 stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol( $\beta$ -sitosterol)로 동정하였다.<sup>8,9)</sup>

화합물 5(colorless crystals)는 TLC에 전개하고, 10% 황산을 분무, 건조 한 후 발색한 결과 자색으로 발색되었다.  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C-NMR}$  스펙트럼으로부터, 화합물 4와 유사한 골격의 sterol임을 확인하였다. 단, 화합물 4에서는 관측되지 않았던 당 한 분자의 signal들이 관측되었으며, 당이 결합함으로써 H-3의 signal이  $\delta_{\text{H}}$  3.42에서 나타나는 것으로 보아, glycosidation shift가 인정되었다. 구성당 signal의 chemical shift를 검토한 결과,  $\delta_{\text{H}}$  5.04에서 관측된 anomeric proton( $d, J=7.6$  Hz)의 값으로부터 당이 sitosterol에  $\beta$ 결합하고 있는 것을 확인하였으며,  $^{13}\text{C-NMR}$  스펙트럼에서 당 signal들의 chemical shift [ $\delta_{\text{C}}$  102.6(C-1'),  $\delta_{\text{C}}$  78.7(C-3'),  $\delta_{\text{C}}$  78.3(C-5'),  $\delta_{\text{C}}$  75.4(C-2'),  $\delta_{\text{C}}$  71.5(C-4'),  $\delta_{\text{C}}$  61.9(C-6')]로부터 구성당은 D-glucopyranose임을 알 수 있었다. 따라서, 화합물 5는  $\beta$ -sitosterol의 C-3의 hydroxy기에 D-glucopyranose가  $\beta$ 결합하고 있는 화합물인  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(daucosterol)로 구조 결정하였다.<sup>8,9)</sup>

순무에서 분리된 지질 화합물들을 문헌 조사해 본 결과 생리 활성이 있는 것으로 확인 되었다. Palmitic acid, linolenic acid는 항산화 활성이 높은 것으로 나타났으며,<sup>10,11)</sup> linoleic acid<sup>12)</sup>은 항균 활성이 높은 것으로 나타났다. 또한 sterol 화합물 중  $\beta$ -sitosterol, daucosterol은 많은 식물에 존재하는 물질이지만 다양한 활성이 알려져 있다. 문헌에 의하면,  $\beta$ -sitosterol이 자궁에 존재하는 acid phosphate 활성을 촉진시킴으로써 uterotrophic 효과가 있음을 보고하였으며, 항바이러스작용, 항염증과 해열작용을 나타내는 것으로 보고하고 있다.<sup>13)</sup> 그리고 daucosterol은 암세포에 대한 세포독성작용,<sup>13)</sup> 암세포 발생과 관련된 활성인 FPTase 저해효과<sup>8)</sup> 및 살충효과와 관련된 항생취 효과<sup>14)</sup>가 보고되어진 바 있다. 따라서 강화도에서 재배되고 있는 순무의 재배환경, 추수시기, 재배작물의 표준화와 함께 기능성 식품 및 의약품으로서의 응용 가능성이 충분히 있을 것으로 사료 된다.

## 초 록

순무 뿌리로부터 활성 물질을 분리 동정 하기 위하여 80% MeOH 수용액으로 추출하고 이를 여과, 감압 농축하여 MeOH 추출물을 얻었다. 이를 EtOAc분획, *n*-BuOH분획, H<sub>2</sub>O분획으로 나누었으며, EtOAc분획과 *n*-BuOH분획에 대해 silica gel 및 ODS column chromatography를 실시하여 5종의 화합물을 분리 정제하였다. <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT spectrum 및 Mass spectrum 등을 통하여 palmitic acid methyl ester(1), linolenic acid methyl ester(2), linoleic acid methyl ester(3),  $\beta$ -sitosterol (4), daucosterol(5)으로 구조를 결정하였다.

**Key words:** *Brassica campestris* ssp *rapa*, palmitic acid methyl ester, linolenic acid methyl ester, linoleic acid methyl ester,  $\beta$ -sitosterol, daucosterol.

## 감사의 글

본 연구는 강화군에서 지원하는 강화 특화 작목의 생리활성 탐색 및 효능 검증 연구비로 수행되었음.

## 참고문헌

- Kang, I. H. (1991) *History of Culture in Korea* (II). Samayoungsa. Seoul. Korea. 197.
- Jung, B. S. and Shin, M. K. (1990) In *Hyang Yak Dae Sa Jun. Young Lim Sa* (3rd ed.) Seoul, Korea.
- Itoh, H., Yoshida, R., Mizuno, T., Kudo, M., Nikuni, S. and Karki, T. (1984) Study on the contents of volatile isothiocyanate of cultivars of Brassica vegetables. *Report of the National Food Research Institute*, **45**, 33-41.
- Ju, H., Chong, C., Mullin, W. and Bilble, B. (1982) Volatile isothiocyanates and nitriles from glucosinolates in rutabaga and turnip. *J. Am. Soc. Horticultural Sci.* **107**, 1050-1054.
- Sones, K., Heaney, R. and Fenwick, G. (1984) An estimate of the mean daily intake of glucosinolates from cruciferous vegetables in the UK. *J. Sci. Food Agric.* **35**, 712-720.
- Wilkinson, A., Rhodes, M. and Fenwick, R. (1984) Myrosinase activity of cruciferous vegetables. *J. Sci. Food Agric.* **35**, 543-552.
- Kim, J. S., Choi, Y. H., Seo, J. H., Lee, J. W., Kim, Y. S., Ryu, S. Y., Kang, J. S., Kim, Y. K. and Kim, S. H. (2004) Chemical constituents from the Root of *Brassica campestris* ssp *rapa*. *Korean J. Pharmacogn.* **35**, 259-263.
- Kim, D. H., Song, M. J., Han, K. M., Bang, M. H., Kwon, B. M., Kim, S. H., Kim, D. K., Chung, I. J., Park, M. H. and Baek, N. I. (2004) Development of biologically active compounds from edible plant sources-X. Isolation of lipids from the flower of *Campsis grandiflora* K. Schum. and their inhibitory effect on FPTase. *J. Korea Soc. Appl. Biol. Chem.* **47**, 357-360.
- Song, M. J., Hong, Y. H., Kim, D. H., Kim, D. K., Chung, I. S., Lee, Y. H., Kim, S. H., Park, M. H., Kim, I. H., Kwon, B. M. and Baek, N. I. (2003) Development of biologically active compounds fom edible plant sources-VI. Isolation of sterol compounds from the aerial parts of garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). *J. Korea Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **46**, 376-379.
- Gurdip, S. (2006) Chemical constituents antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food Control.* **17**, 745-752.
- Chang, J. Z. (2005) Fatty acid sythesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. *FEBS Letters.* **579**, 5157-5162.
- Akino N. (1975) Antioxidants from Rape (*Brassica campestris* VIR. *Japonica Hara*) oil cake. *Natural Product Research.* **18**, 231-239.
- Hyun, J. W., Yang, Y. M., Sung, M. S., Chung, H. S., Paik, W. H., Kang, S. S. and Park, J. G. (1996) The Cytotoxic activity of sterol derivatives from *Pulsatilla chinensis* regal. *J. Korean Cancer* **28**, 145-150.
- Carlos, R. P., Matias, G., Jose, C. G., Marta, E. S. and Carlis, E. T. (2005) Insecticidal and antifeedant effects of *Junellia aspera* (Verbenaceae) triterpenes and derivatives on *Sitophilus oryzae*. *J. Stored Prod. Res.* **41**, in press.