

## 식용식물자원으로부터 활성물질의 탐색 XXII. 순무 (*Brassica campestris* ssp *rapa*) 뿌리로부터 인돌 화합물의 분리 및 hACAT 저해 활성

방면호<sup>1</sup> · 이대영<sup>1</sup> · 오영준<sup>1</sup> · 한민우<sup>1</sup> · 양혜정<sup>1</sup> · 정해곤<sup>2</sup> · 정태숙<sup>3</sup> · 이경태<sup>4</sup> · 최명숙<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, <sup>5</sup>경북대학교 식품영양학과

## Development of Biologically Active Compounds from Edible Plant Sources XXII. Isolation of Indoles from the Roots of *Brassica campestris* ssp *rapa* and their hACAT Inhibitory Activity

Myun-Ho Bang<sup>1</sup>, Dae-Young Lee<sup>1</sup>, Young-Jun Oh<sup>1</sup>, Min-Woo Han<sup>1</sup>, Hye-Joung Yang<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, Yongin 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 December 11, 2007; Accepted December 21, 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 fraction, three compounds were isolated through the repeated silica gel and octadecyl silica gel (ODS) column chromatography. From the results of spectroscopic data including NMR and MS, the chemical structures of the compounds were determined as caulilexin C (1), indoleacetonitrile (2) and arvelexin (3). The arvelexin (3) has been isolated from this plant for the first time. Compounds 1, 2 and 3 showed inhibitory activity on human Acyl CoA: cholesterol transferase 1 (hACAT1) by 54.6±6.0%, 69.2±4.7% and 68.6±3.7%, and on human Acyl CoA: cholesterol transferase 2 (hACAT2) by 4.8±13.4%, 45.6±4.8% and 39.5±4.3%, respectively, at 100 µg/ml.

**Key words:** arvelexin, *Brassica campestris* ssp *rapa*, caulilexin C, hACAT, indoleacetonitrile

### 서 론

순무는 양귀비목(Papaveraceae) 십자화과(배추과, Brassicaceae)의 두해살이 풀로, 뿌리와 잎을 식용할 수 있는 채소이다. 여름철에 과종하고, 가을에 발아하며, 월동한 다음해 봄에 꽃줄기가 자란 후 노란 십자 꽃이 핀다. 뿌리의 모양은 팽이와 유사하고 겹질 색은 적자색 또는 녹색을 띠며 무 보다 순한 맛을 지니나 무와는 다른 독특한 맛을 나타낸다. 원산지는 중앙아시아와 유럽 남부지방이며, 기원은 지중해연안에 자생하는 잡초 유채(*Brassica campestris* L.)라고 알려져 있다. 우리나라에 도입된 시기는 정확히 알 수 없으나 고려 중엽 이규보의 *가포육*

영(家圃六詠)에 순무를 재료로 한 김치가 우리나라 문헌상 최초로 등장한다.<sup>1)</sup> 현재 우리나라에서는 강화도 등지에서 특산물로 널리 재배되고 있으며 주로 김치의 원료로 활용되고 있다. 효능으로는 개위(開胃), 하기(下氣), 이습(利濕), 해독 등이 알려져 있고, 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 함량 변화,<sup>5)</sup> myrosinase 활성,<sup>6)</sup> 지질, indole 및 cinnamic acid 유도체의 분리 동정에 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.

\*Corresponding author

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

## 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.

**시약 및 기기.** Column chromatography-용 silica gel( $\text{SiO}_2$ )은 Kiesel gel 60(Merck, Darmstadt, Germany)을 octadecyl silica(ODS) gel은 LiChroprep RP-18(Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였다. Thin layer chromatography (TLC)는 Kieselgel 60 F<sub>254</sub>와 RP-18 F<sub>254s</sub>를 사용하였고, 실험에 이용한 모든 시약은 특급시약을 사용하였다. hACAT의 활성 측정을 위해 사용한 [ $1\text{-}^{14}\text{C}$ ] oleoyl-CoA(56  $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$ )는 Amersham Biosciences (Buckinghamshire, UK)에서 구입하여 사용하였으며,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , dithiothreitol, bovine serum albumin(fatty acid free) 등은 Sigma-Aldrich Ltd.(Seoul, Korea)에서 구입하여 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/MS는 JMS-700(JEOL, Tokyo, Japan)로 측정하였다. UV lamp는 Spectroline(Model ENF-240 C/F, Spectronics Corporation, New York, USA)을 사용하였다.

EtOAc 분획으로부터 활성물질의 분리. 순무 뿌리 생체 중 100 kg을 겹질과 속 부분을 구분하고 세절하여 속 부분(48 kg)을 MeOH 80% 수용액( $18\text{ l} \times 5$ )으로 두 차례 추출한 후 여과자로 여과 하였다. 얻어진 여액을 45°C에서 감압농축하여 MeOH 추출물을 얻었다. 얻어진 MeOH 추출물을 EtOAc( $3\text{ l} \times 2$ )/ $\text{H}_2\text{O}$  ( $3\text{ l}$ )로 분배 추출하였고, 다시  $\text{H}_2\text{O}$ 층을  $n\text{-BuOH}$ ( $3\text{ l} \times 2$ )/ $\text{H}_2\text{O}$  ( $3.2\text{ l}$ )로 분배 추출하였다. 각 층을 감압농축하여 EtOAc(15 g),  $n\text{-BuOH}$ (48 g) 및  $\text{H}_2\text{O}$  분획을 얻었다.

EtOAc분획에 대하여 silica gel column chromatography(c.c.) ( $\phi 5 \times 22\text{ cm}$ ,  $n\text{-hexane-EtOAc} = 10 : 1 \rightarrow 5 : 1 \rightarrow 3 : 1 \rightarrow 1 : 1 \rightarrow \text{CHCl}_3\text{-MeOH} = 10 : 1 \rightarrow 7 : 1 \rightarrow 5 : 1 \rightarrow 3 : 1 \rightarrow 2 : 1 \rightarrow 1 : 1$ )를 실시하여 18개의 분획물(BRE-1~BRE-18)을 얻었다. 이 중에서 BRE-7(515 mg) 분획에 대하여 ODS c.c. ( $\phi 5 \times 22\text{ cm}$  MeOH- $\text{H}_2\text{O} = 3 : 1$ )로 정제하여 BRE7-1 [화합물 1, 38 mg,  $V_e/V_t$  0.01-0.12(elution volume/total volume); TLC(RP-18 F<sub>254s</sub>)  $R_f = 0.75$ , MeOH- $\text{H}_2\text{O} = 5 : 1$ ]과 BRE7-3(화합물 2, 15 mg,  $V_e/V_t$  0.13-0.21; TLC(RP-18 F<sub>254s</sub>)  $R_f = 0.55$ , MeOH- $\text{H}_2\text{O} = 5 : 1$ )를 분리하였다. BRE9(268 mg) 분획에 대하여 ODS c.c. ( $\phi 3.5 \times 12\text{ cm}$ , MeOH- $\text{H}_2\text{O} = 1 : 1$ )로 정제하여 BRE9-3(화합물 3, 21 mg,  $V_e/V_t$  0.5-0.63; TLC(RP-18 F<sub>254s</sub>)  $R_f = 0.45$ , MeOH- $\text{H}_2\text{O} = 3 : 1$ )를 분리하였다.

화합물 1 (caulilexin C); colorless powder; m.p. 149-152°C; EI/MS  $m/z$  186 [ $\text{M}^+$ ], 171, 155, 128, 101; UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  271 nm; IR<sub>max</sub> 2937, 2249, 1454  $\text{cm}^{-1}$ ; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ ): 7.47 (1H, d,  $J = 7.8\text{ Hz}$ , H-7), 7.37 (1H, dd,  $J = 7.8, 7.8\text{ Hz}$ , H-6), 7.21 (1H, dd,  $J = 7.8, 7.8\text{ Hz}$ , H-5), 7.08 (1H, d,  $J = 7.8\text{ Hz}$ , H-4), 7.18 (1H, s, H-2), 3.98 (3H, s, H-12), 3.73 (2H, s, H-10); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ): 132.30 (C-8) 123.10 (C-7), 122.32 (C-9), 121.67 (C-6), 120.34 (C-5), 118.24 (C-4), 117.85 (C-11), 108.61 (C-2), 100.27 (C-3), 66.03 (C-12), 14.25 (C-10).

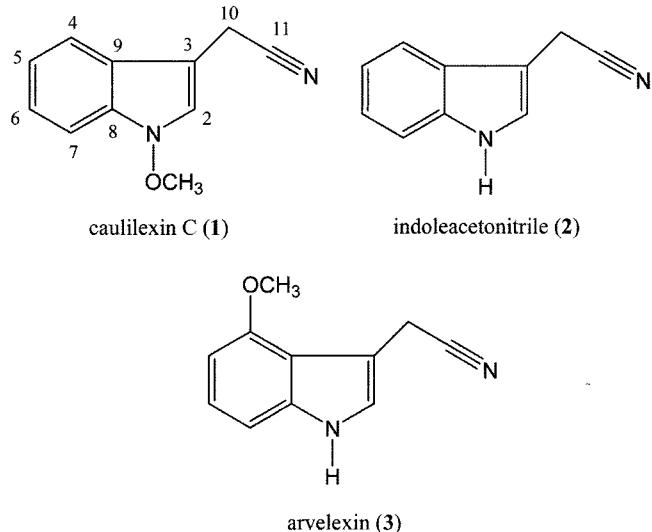


Fig. 1. Chemical structures of Indole alkaloids (1-3) from the roots of *Brassica campestris* ssp *rapa*.

(3H, s, H-12), 3.73 (2H, s, H-10); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ): 132.30 (C-8) 123.10 (C-7), 122.32 (C-9), 121.67 (C-6), 120.34 (C-5), 118.24 (C-4), 117.85 (C-11), 108.61 (C-2), 100.27 (C-3), 66.03 (C-12), 14.25 (C-10).

화합물 2 (indoleacetonitrile); colorless powder; m.p. 149-152°C; EI/MS  $m/z$  156 [ $\text{M}^+$ ], 155, 130; IR<sub>max</sub> 3386, 2249, 1634, 1250  $\text{cm}^{-1}$ ; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ ): 7.47 (1H, d,  $J = 8.0\text{ Hz}$ , H-7), 7.37 (1H, dd,  $J = 8.0, 8.0\text{ Hz}$ , H-6), 7.21 (1H, dd,  $J = 8.0, 8.0\text{ Hz}$ , H-5), 7.08 (1H, d,  $J = 8.0\text{ Hz}$ , H-4), 7.18 (1H, s, H-2), 3.98 (3H, s, H-12), 3.73 (2H, s, H-10); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ): 136.16 (C-8), 125.87 (C-9), 122.80 (C-7), 122.67 (C-6), 120.14 (C-5), 118.09 (C-4), 117.97 (C-11), 111.45 (C-2), 104.64 (C-3), 14.47 (C-10).

화합물 3 (arvelexin); colorless powder ( $\text{MeOH-CHCl}_3$ ); m.p. 141-142°C; EI/MS  $m/z$  186 [ $\text{M}^+$ ], 171; IR<sub>max</sub> 3396, 2955, 2850, 1619, 1258  $\text{cm}^{-1}$ ; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ ): 7.11 (1H, dd,  $J = 8.0, 8.0\text{ Hz}$ , H-6), 7.03 (1H, s, H-2), 6.95 (1H, d,  $J = 8.0\text{ Hz}$ , H-5), 6.49 (1H, d,  $J = 8.0\text{ Hz}$ , H-7), 4.21 (3H, s, H-12), 4.08 (2H, s, H-10); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ): 154.09 (C-4), 137.63 (C-8), 125.12 (C-9), 123.49 (C-7), 121.26 (C-5), 119.18 (C-11), 104.85 (C-3), 104.61 (C-2), 99.67 (C-6), 55.14 (C-12), 16.02 (C-10).

**hACAT 단백질원의 생산.** hACAT1 단백질원은 human liver cDNA library로부터 hACAT1과 hACAT2 cDNA를 cloning하여, baculovirus로 expression하였다. Sf9 cell을 이용하여 recombinant virus를 Hi5 cell에 infection하여 단백질을 얻었다.<sup>8)</sup> 결정된 MOI에 따라 재조합 바이러스를 건강하게 배양된 Hi5 세포(500 ml,  $1.5 \times 10^6$  cell/ml)에 처리하고, 27°C에서 96시간 동안 배양플라스크(2 ml spinner flask)를 80 rpm으로 교반하면서, 바이러스의 증식과 단백질의 대량생산을 유도하였다. 배양 후 원심분리(1,000×g)를 통해 Hi5 세포주를 회수하고,

hypotonic buffer(40 mM phosphate/0.1 M sucrose/50 mM KCl/30 mM EDTA, pH 7.2)를 처리하여 급속동결과 해동의 방법으로 세포막을 부수어 단백질을 노출시키고, 1시간 동안 초원심분리(100,000×g)하여 얻은 microsome을 분취한 후 -80°C 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

**ACAT의 활성 측정.** ACAT 활성의 측정은 [ $1^{-14}\text{C}$ ] oleoyl-CoA를 기질로 하여 Brecher & Chan<sup>9</sup>의 방법을 일부 수정하여 사용하였다. 10  $\mu\text{l}$  시험물질액, 4.0  $\mu\text{l}$  microsomal enzyme, 20.0  $\mu\text{l}$  assay buffer(0.5 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM DTT, pH 7.4), 40 mg/ml BSA(지방산이 제거된 것, Sigma A6003) 15.0  $\mu\text{l}$ , 20 mg/ml cholesterol 2.0  $\mu\text{l}$ , 41.0  $\mu\text{l}$ , H<sub>2</sub>O를 가하여 37°C에서 15분간 예비 반응시켰다. 이 반응액에 [ $1^{-14}\text{C}$ ] oleoyl-CoA 8  $\mu\text{l}$  (0.05  $\mu\text{Ci}$ , 최종농도 10  $\mu\text{M}$ )를 첨가하여 다시 37°C에서 15분간 예비반응시킨 후 isopropanol-heptane(4 : 1, v/v) 1 ml을 가하여 반응을 정지시키고, heptane 0.6 ml와 5배로 희석한 assay buffer 0.4 ml를 첨가한 후 원심분리를 행하였다. 효소활성의 측정은 원심분리하여 얻은 상층액 100  $\mu\text{l}$ 에 cocktail(Lipoluma, Lumac Co) 4 ml를 첨가한 후 liquid scintillation counter(1450 Microbeta, Trilux Wallac Oy, Finland)를 이용하여 생성된 [ $1^{-14}\text{C}$ ] cholesteryl ester의 radioactivity를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

강화특화작목의 생리활성 탐색 및 효능 검정 연구에 선행하여, 순무(*Brassica campestris* ssp *rapa*)뿌리 속 부분 48 kg을 MeOH용액으로 실온에서 하루 동안 추출하기를 2번 반복하였다. 용매 극성의 차이에 따라 계통 분획하여 세 가지 분획 즉 EtOAc, *n*-BuOH 및 H<sub>2</sub>O분획을 얻었다. EtOAc분획과 *n*-BuOH 분획에 대하여 TLC를 이용하여 함유성분을 추정하였으며, EtOAc 분획으로부터 silica gel과 ODS column chromatography를 반복하여 3종의 indole화합물을 분리하였다.

화합물 1(colorless powder)은 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 있었고, 10% aq. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 분무, 건조 및 가열하였을 경우 진한 녹색으로 발색되었다. EI/MS를 측정하였을 때,  $m/z$  186 [M]<sup>+</sup>의 peak가 관측되었고, IR 스펙트럼으로부터 nitrile기가 2249 cm<sup>-1</sup>에서 관측되었고, 방향족 이중결합(1651 cm<sup>-1</sup>)의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spectrum에서  $\delta_{\text{H}}$  7.47 (1H, d,  $J$ =7.8 Hz),  $\delta_{\text{H}}$  7.37 (1H, dd,  $J$ =7.8, 7.8 Hz),  $\delta_{\text{H}}$  7.21 (1H, dd,  $J$ =7.8, 7.8 Hz),  $\delta_{\text{H}}$  7.18 (1H, s) 및  $\delta_{\text{H}}$  7.08 (1H, d,  $J$ =7.8 Hz)의 signal로부터 olefinic methine proton signal을 확인할 수 있었고,  $\delta$  3.98 (3H, s) 영역에서 methoxy proton과  $\delta$  3.73 (2H, s) 영역에서 methylene proton signal이 관측되어 indole화합물로 추정 되었다. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spectrum에서 11개의 탄소 signal이 관측되었고,  $\delta_{\text{C}}$  123.10 (C-7), 121.67 (C-6), 120.34 (C-5), 118.24 (C-4) 및 108.61 (C-2)에서 olefinic methine carbon signal들이 관측되었으며,  $\delta_{\text{C}}$  122.32 (C-9), 100.27 (C-3) 및 132.30 (C-8) 영역에서 olefinic quaternary carbon signal들을 확인할 수 있었다. 또한  $\delta_{\text{C}}$  117.85 (C-11)에서 nitrile-carbon이 관측되었으며,  $\delta_{\text{C}}$  66.03에서 methoxy carbon과

$\delta_{\text{C}}$  14.25에서 methylene carbon signal이 각각 관측되었다. 따라서 정확한 구조 동정을 위하여 문헌과 비교해본 결과 화합물 1은 1-methoxyindole-3-acetonitrile (caulilexin C)로 구조 결정하였다.<sup>10</sup>

화합물 2(colorless powder)는 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 있었고, 10% aq. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 분무, 건조 및 가열하였을 경우 진한 녹색으로 발색되었다. <sup>1</sup>H-NMR 및 <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서는 화합물 1과 매우 유사한 signal이 관측되었으나, 산소가 치환된 영역( $\delta$  3.98,  $\delta_{\text{C}}$  66.03)에서 methoxy proton 및 carbon signal이 관측되지 않았다. 또한, EI/MS 측정값이  $m/z$  156 [M]<sup>+</sup>의 peak가 관측되었으며, IR 스펙트럼으로부터, 3345 cm<sup>-1</sup>에서 하나의 강한 흡수 밴드가 확인됨으로 이차 amine 기를 확인 할 수 있었다. 따라서 정확한 구조 동정을 위하여 문헌과 비교해본 결과 화합물 2는 indole-3-acetonitrile (indoleacetonitrile)로 구조 결정 하였다.<sup>11</sup>

화합물 3(coloreess powder)는 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 있었고, 10% aq. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 분무, 건조 및 가열하였을 경우 진한 녹색으로 발색되었다. EI/MS 스펙트럼으로부터  $m/z$  186 [M]<sup>+</sup>의 peak가 관측되었고, IR 스펙트럼으로부터, 3396 cm<sup>-1</sup>에서 하나의 강한 흡수 밴드가 확인됨으로 이차 amine 기를 확인 할 수 있었다. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spectrum에서 화합물 1, 2와는 다른 coupling 패턴을 나타냈으며 [ $\delta_{\text{H}}$  7.11 (1H, dd,  $J$ =8.0, 8.0 Hz H-6), 7.03 (1H, s, H-2), 6.95 (1H, d,  $J$ =8.0 Hz, H-5), 6.49 (1H, d,  $J$ =8.0 Hz, H-7)] proton signal로부터 1,2,3-삼치환 벤젠 구조의 indole 화합물로 예측되었다. 또한  $\delta_{\text{H}}$  4.21(3H, s)에서 methoxy proton signal과  $\delta_{\text{H}}$  4.08(2H, s)에서 methylene proton signal이 관측되었다. <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) spectrum에서는 11개의 탄소 signal이 관측되었으며, methoxy( $\delta_{\text{C}}$  55.14, C-12)기와 결합한 1개의 olefinic quaternary carbon signal( $\delta_{\text{C}}$  154.09, C-4)을 제외한 나머지 signal 들은 화합물 2와 매우 유사한 signal이 관측되었다. 따라서 화합물 3은 한 개의 methoxy기와 acetonitrile이 결합되어 있는 indole화합물로 판단되어 4-methoxyindole-3-acetonitrile(arvelexin)로 구조 결정하고, 기존의 문헌과 비교하여 구조를 확인 동정하였다.<sup>12</sup>

Acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase(ACAT)은 동물 조직과 세포내에서 콜레스테롤의 에스테르화 반응을 촉매하는 효소이며,<sup>13</sup> 소장에서의 cholesterol흡수 조절과 간에서의 lipoprotein의 합성과 분비 조절 기능을 한다. ACAT에 의한 lipoprotein의 합성 및 분비 그리고 macrophage에 cholesteroyl ester(CE)가 축적되어 foam cell의 형성에 영향을 미치기 때문에 동맥경화의 치료 혹은 예방 목적으로 지난 20년간 다양한 ACAT 저해제들이 개발되었다. 한편 ACAT는 ACAT1과 ACAT2의 두 가지의 형태로 존재한다. 이들은 심혈질환대사에서 콜레스테롤의 세포내 저장 등의 중요한 역할을 하며, 조직 특이성, 세포내에 존재하는 위치, 소포체막에 결합된 형태, 대사적 기능 등에서 ACAT1과 ACAT2는 뚜렷한 차이가 있다.<sup>14</sup>

최근 ACAT1의 유전자가 적중된 생쥐모델 연구 결과 대조군에 비해 동맥경화가 훨씬 감소하였으며, 주된 기능은 뇌, 피부, 아드레날, 대식세포 등의 콜레스테롤 항상성을 유지하는 것으로

로 밝혀졌다.<sup>15)</sup> 지금까지 보고된 ACAT inhibitor 들은 rat liver microsomal ACAT 또는 rat liver macrophage(J774) ACAT inhibitor 이었다. 따라서 본 연구에서는 hACAT1 및 ACAT2 단백질원을 사용하여 이번에 분리한 3종의 indole 화합물에 대하여 hACAT 저해 활성을 측정하였다.

이번에 분리한 3종 인돌화합물이 hACAT1의 활성에 미치는 영향을 보면, 각 화합물을 100 µg/ml로 처리하였을 때, 54.6±6.0%, 69.2±4.7% 및 68.6±3.7% 저해활성을 나타내었다. 양성 대조군으로 사용한 oleic acid anilide는 동일한 실험조건에서 0.3 µM 처리했을 때 57.4±2.1% 저해한 결과와 비교하면 저해 활성이 높다고는 할 수 없으나, hACAT1 저해활성을 갖는 천연 유래 화합물인 ixerin M(46.4±1.1%)<sup>16)</sup>, astragalin(13.1±0.8%)<sup>17)</sup>들의 저해활성과 비교하면 비교적 높은 편에 속한다고 할 수 있다. 또한 hACAT2에 대해서도 각 화합물을 100 µg/ml로 처리하였을 때, 4.8±13.4%, 45.6±4.8% and 39.5±4.3%의 저해활성을 나타내었다. 화합물 1은 저해활성이 매우 낮았고, 화합물 2와 3도 양성대조군으로 사용한 oleic acid anilide가 동일한 실험조건에서 0.3 µM 처리했을 때 57.4±2.1% 저해한 결과와 비교하면 저해활성이 높다고는 할 수 없으나, hACAT2 저해활성을 갖는 천연 유래 화합물이 보고된 예가 극히 드물다는 점에서 의미가 있다고 할 수 있다. 특히 순무는 식용으로 이용할 수 있다는 점에서 이 연구결과의 의미를 찾을 수 있다. 뿐만 아니라 이번에 분리한 indole 화합물들은 배추 및 십자화과 채소류에 널리 함유된 유기황배당체 화합물(glucosinolate)의 분해산물로서 glucosinolate가 추출 도중 유기용매에 의하여 혹은 식물세포에 존재하는 효소인 myrosinase의 작용에 의하여 분해된 nitrile산물로서 항암활성 및 식물성장호로몬으로 작용한다고 알려져 있다.<sup>18,19)</sup> 따라서 hACAT1 저해활성을 가지고 있을 뿐만 아니라 위에서 기술한 바와 같이 항암활성을 가진 indole 물질을 함유하고 있는 순무의 건강기능성 식품 또는 의약품의 소재로서의 용용 가능성이 충분히 있을 것으로 사료되며, 추후 이의 활용과 관련된 연구가 활발히 추진될 것으로 기대된다.

## 감사의 글

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

## 초 록

순무 뿌리로부터 80% MeOH 수용액으로 추출하고 이를 여과, 감압 농축하여 MeOH추출물을 얻었다. 이를 EtOAc분획, n-BuOH분획, H<sub>2</sub>O분획으로 나누었으며, EtOAc분획으로부터 silica gel 및 ODS column chromatography를 실시하여 3종의 화합물을 분리 정제하였다. 각각에 대하여 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT 스펙트럼 및 Mass 스펙트럼 데이터를 해석하여, caulilexin C (**1**), indoleacetonitrile (**2**) 및 arvelexin (**3**)로 구조를 결정하였다. 화합물 **3**는 순무에서는 이번에 처음 분리, 보고되었다. 또한 화합물 **1**, **2**, 및 **3**은 100 µg/ml의 농도에서

hACAT1의 활성을 각각 54.6±6.0%, 69.2±4.7% 및 68.6±3.7% 억제하였고, hACAT2의 활성을 각각 4.8±13.4%, 45.6±4.8% 및 39.5±4.3% 억제하였다.

**Key words:** arvelexin, *Brassica campestris* ssp *rapa*, caulilexin C, hACAT, indoleacetonitrile

## 참고문헌

- Kang, I. H. (1991) *History of Culture in Korea* (II). Samyangsa. Seoul, Korea. p 197.
- Jung, B. S. and Shin, M. K. (1990) In *Hyang Yak Dae Sa Jun*. Young Lim Sa. Seoul, Korea. p 574.
- 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. Hort. 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*. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 259-263.
- Cho, K. H., An, S., Lee, W. S., Paik, Y. K., Kim, Y. K., and Eong, T. S. (2003) Mass-production of human ACAT-1 different substrate specificity and inhibitory regulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **309**, 864-872.
- Brecher, P. and Chan, C. T. (1980) Properties of acyl-CoA:cholesterol O-acyltransferase in aortic microsomes from atherosclerotic rabbits. *Biochem Biophys Acta* **1617**, 458-471.
- Kim, S. J., 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*. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 259-263.
- Mitsuo, M., Tomoko, N. and Chikako, Y. (2005) Volatile components of the leaves of *Brassica rapa* L. var. *perviridis* Bailey. *Flavour Fragr. J.* **20**, 158-160.
- Pedras, M. S. C., Chumala, P. B. and Suchy, M. (2003) Phytoalexins from *Thlaspi arvense*, a wild crucifer resistant to virulent *Leptosphaeria maculans*: structures, syntheses and antifungal activity. *Phytochemistry* **64**, 949-956.
- Chang, T. Y., Chang, C. Y. and Cheng, D. (1997) Acylcoenzyme A: cholesterol acyltransferase, *Annu. Rev. Biochem.* **66**, 613-638.
- Rudel, L. L., Lee, R. G. and Cockman, T. L. (2001) Acylcoenzyme A: cholesterol acyltransferase types 1 and 2: structure and function in atherosclerosis, *Curr. Opin. Lipidol.* **12**, 121-127.
- Accad, M., Smith, S. J., Newland, D. L., Sanan, D. A., King,

- L. E., Linton, M. F., Fazio, S. and Farese, R. V. Massive xanthomatosis and altered composition of atherosclerotic lesions in hyperlipidemic mice lacking acyl CoA:cholesterol acyltransferase 1. *J. Clin. Invest.* **105**, 711-719.
16. Ahn, E. M., Bang, M. H., Song, M. C., Park, M. H., Kim, H. Y., Kwon, B. M. and Baek, N. I. (2006) Cytotoxic and ACAT-inhibitory sesquiterpene lactones from the root of *Ixeris dentata forma albiflora*. *Arch. Pharm. Res.* **29**, 937-941.
17. Yang, H. J., Song, M. J., Bang, M. H., Lee, J. H., Chung, I. S., Lee, Y. H., Jeong, T. S., Kwon, B. M., Kim, S. H., Kim, D. K., Park, M. H. and Baek, N. I. (2005) Development of Biologically Active Compounds from Edible Plant Sources XII. Flavonol glycosides from *Trigonotis peduncularis* Benth and its hACAT1 inhibitory activity. *Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **48**, 98-102.
18. Loub, W. D., Wattenberg, L. W. and Davis, D. W. (1975) Aryl hydrocarbon hydroxylase induction in rat tissues by naturally occurring indoles of cruciferous plants. *J. Natl. Cancer Inst.* **54**, 985-988.
19. Maskell, I. and Smithard, R. (1994) Degradation of glucosinolates during *in vitro* incubations of rapeseed meal with myrosinase (EC 3.2.3.1) and with pepsin (EC 3.4.23.1) hydrochloric acid and contents of porcine small intestine and caecum. *Br. J. Nutr.* **72**, 455-466.