

## 들깨(*Perilla frutescens*) 새싹 추출물의 항산화 및 항염 효과

정승일 · 김현수<sup>1</sup> · 전인화<sup>1</sup> · 강현주<sup>1</sup> · 목지에<sup>1</sup> · 천춘진<sup>2</sup> · 유현희<sup>3</sup> · 장선일<sup>1\*</sup>  
전주생물소재연구소, <sup>1</sup>전주대학교 보건관리학과, <sup>2</sup>영농조합법인 애농, <sup>3</sup>군산대 식품영양학과

### Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Ethanol Extracts from *Perilla frutescens*

Seung-II Jeong, Hyeon Soo Kim<sup>1</sup>, In Hwa Jeon<sup>1</sup>, Hyun Ju Kang<sup>1</sup>, Ji Ye Mok<sup>1</sup>,  
Chun Jin Cheon<sup>2</sup>, Hyeon Hee Yu<sup>3</sup>, and Seon Il Jang<sup>1\*</sup>

Jeonju Biomaterials Institute

<sup>1</sup>Department of Healthcare & Science, Jeonju University

<sup>2</sup>Aenong Association

<sup>3</sup>Department of Food and Nutrition, Kunsan National University

**Abstract** We investigated the effects of an ethanol extract from *Perilla frutescens* sprouts (PFSE) as an antioxidant, and its effects on edema and inflammation in RAW 264.7 cells and HMC-1 cells. The antioxidant activities (DPPH and ABTS radical scavenging) of PFSE were similar to those of butylated hydroxytoluene (BHT) and (±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox). We also investigated the anti-inflammatory effects of PFSE on lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 cells and HMC-1 cells stimulated with phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) with the calcium ionophore A23187. TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  production, which had been increased by treatment with LPS or PMA plus A23187, were significantly inhibited by PFSE in a dose-dependent manner. Furthermore, PFSE significantly reduced the xylene-induced ear edema and the carrageenan-induced paw edema of ICR mice in a dose-dependent manner. The effects of PFSE (200 mg/kg) in reducing ear and paw edema were similar to those of aspirin (50 mg/kg). These results suggest that PFSE can be potentially used as a medicine for treating oxidative stress, an edematous and inflammatory disease.

**Keywords:** *Perilla frutescens* sprouts, ethanol extract, antioxidant, edema, anti-inflammation

## 서 론

최근 인간의 수명이 연장되면서 만성질환인 생활습관병(lifestyle related disease)이 급증하고 있는데(1), 이러한 원인은 생체의 대사과정에서 발생하는 활성산소류(reactive oxygen species, ROS)에 기인한다고 알려졌다(2,3). ROS는 세포 구성 성분인 지질, 단백질, 당 및 DNA 등에 대하여 비선택적, 비가역적인 파괴 작용을 함으로써 뇌졸중과 파킨슨병 등과 같은 뇌질환은 물론 심장질환, 허혈, 동맥경화 등과 같은 심혈관계 질환 등 각종 인체질환을 유발할 수 있다(4,5).

일반적으로 생체에서 생성되는 ROS는 체내에 존재하는 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase 등과 같은 항산화 효소와 glutathione, 비타민 E 등과 같은 항산화 물질에 의하여 제거된다. 그러나 대사과정에 있어 문제가 발생되거나 염증과 관련된 인체질환이 야기된다면, 체내에 존재하는 항산화 물질이 고갈되어 효과적으로 ROS를 제거하는데 실패할 수 있기

때문에 외부로부터 항산화 물질을 섭취할 필요가 있다(2,3,6).

염증(inflammatory)은 외부 자극에 의한 생체조직의 면역반응의 하나로 발열, 발진, 종창 등을 동반하여 나타나는데(7), 염증과정에서 생성되는 tumor necrosis- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )와 interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 등 염증 매개 사이토카인은 ROS를 촉진함으로써 조직의 손상을 가중시켜 질환을 악화시킬 수 있다(2,8,9). 그러므로 생체의 염증과정에서 생성되는 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 를 효과적으로 억제할 수 있는 항염증제의 발굴은 염증과 활성산소와 관련된 인체질환을 개선하는 데 필수적이라 할 것이다. 또한 부종(edema)은 모세혈관 내의 체액이 밖으로 나와 간질조직에 고여 있는 상태로 간질액이 증가하여 조직이 팽창하는 현상으로 안면, 흉복, 사지 또는 전신에 걸쳐 나타날 수 있는데, 부종의 범위에 따라 국소성 부종과 전신성 부종으로 나눌 수 있다. 부종은 질환의 진행과정에서 수반되는 일시적인 병리상태일 수 있지만, 염증과 관련된 신장질환, 심장질환, 간장질환, 위장질환, 내분비질환, 림프부종 및 피부질환 등에 의해 심각한 병리적 상태로 빠져들 수 있다(10,11). 더욱이 부종과 염증반응이 진행될수록 ROS가 대량 생성되어 주위 조직의 치명적인 손상을 초래하는 것으로 알려져(12) 있기 때문에 항산화, 항염증 및 항부종 억제를 동시에 나타내는 약물의 발굴이 필요하다.

들깨(*Perilla frutescens*)는 우리나라에서 오래전부터 재배해온 작물로 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 일년생 초본이다. 들깨는 종자와 엽채용으로 나뉘는데 종자는 들깨유, 차, 죽, 제과 등에

\*Corresponding author: Seon Il Jang, Department of Healthcare & Science, Jeonju University, Jeonju, Jeonbuk 560-759, Korea  
Tel: 82-63-220-3124  
Fax: 82-63-220-2054  
E-mail: sonjjang@jj.ac.kr  
Received August 20, 2013; revised October 11, 2013;  
accepted October 17, 2013

사용되며 엽채는 신선채소, 절임, 통조림 등에 이용되고 있다(13,14). 지금까지 들깨를 이용한 연구로는 항산화나 항염증에 대한 연구(15,16)가 주로 이루어져 왔으나 들깨 새싹 추출물을 대상으로 항산화 효과와 항염증 그리고 부종 억제에 대해 연구한 결과는 없는 실정이다. 들깨 새싹에서의 기능은 아직까지 알려지지 않았기 때문에 이 품종을 대상으로 그 기능을 연구할 필요가 있다. 특히 들깨 새싹은 세포벽이 얇아 함유된 영양소의 배출이 용이하여 인체 흡수가 빠른 장점이 있다. 또한 재배과정에서 비료 및 농약을 피할 수 있어 건강을 위협할 요소가 줄어든다(17-19). 들깨 새싹은 일반 성숙 채소 보다 종자가 발아되면서 아미노산, 지방산, 탄수화물 등 영양성분의 변화와 함께 비타민, 무기질 그리고 폴리페놀 등 항산화 효과를 나타내는 물질의 함량이 종자 및 성숙기에 비해 높아 생리활성 물질이 증대되는 것으로 알려져 건강 기능성 생리활성물질의 함량이 높아 건강기능성 식품으로 인정받고 있다(17,18).

그러므로 본 연구는 들깨 새싹 추출물(*P. frutescens* sprout ethanol extract, PFSE)을 대상으로 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)와 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 라디칼 소거 활성을 조사한 후 lipopolysaccharide (LPS)로 활성화된 설치류 유래 RAW 264.7 세포와 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)와 calcium ionophore A23187로 동시에 자극한 인간유래 비만세포(mast cells)주인 HMC-1 세포에서 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 억제 효과를 조사하였다. 더불어 마우스 부종에 대한 PFSE의 억제 효과를 조사하여 매우 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

RPMI Medium 1640, Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS)는 Invitrogen사(Carlsbad, CA, USA)에서 구매하였고, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ELISA kit는 BD Bioscience (San Diego, CA, USA)에서 구입하였다. Butylated hydroxytoluene (BHT), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), potassium persulfate, sodium bicarbonate, aspirin, 2-mercaptoethanol, lipopolysaccharide (LPS), ( $\pm$ )-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox), penicillin-streptomycin, carrageenan, xylene, calcium ionophore A23187 및 기타 시약은 reagent grade로 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다.

### 들깨 새싹의 재배 및 추출

들깨(*P. frutescens*) 새싹의 재배는 황숙기에 채종하여 정선한 들깨의 종자를 4°C의 저온저장고에서 2-10개월 동안 저장한 다음 각각의 종자는 2시간 동안 증류수에 침지한 후 70% 에탄올로 30초 동안 소독하여 상토에 파종하였다. 발아조건은 모두 조명을 밝히고 20-25°C 범위에서 습도가 충분히 유지되도록 하여 발아시킨 후 길이 생장이 촉진되도록 암 조건으로 옮겨 10-17일간 생육시켰다. 수확한 들깨 새싹은 냉풍건조기(MEX-220A, MST Lab. Co. Ltd., Bucheon, Korea)로 냉풍 건조하였다. 냉풍건조기는 46°C를 유지 하였으며 24시간 동안 건조하였다. 건조 시료(120g)는 분쇄기(FM-681C, Hani Electric., Seoul, Korea)로 분쇄하였으며, 80% 에탄올 용매로 60°C에서 6시간 동안 환류냉각 추출하였다. 추출액은 여과지(Advantec No. 2, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 회전진공농축기(Eyela A-1000S, Tokyo

Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 감압하였으며, -70°C에서 동결건조기(Eyela, Tokyo, Japan)로 건조하여 추출물을 12g 얻은 후 -20°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

### DPPH 라디칼 소거 활성 측정

DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois의 방법(20)으로 측정하였다. 시료를 MeOH로 녹여 최종 농도가 31.25, 62.5, 125, 250, 500 및 1000  $\mu$ g/mL이 되도록 정량하여 96 well plate에 각 시료를 100  $\mu$ L을 주입하고, 동시에 0.3 mM DPPH 100  $\mu$ L를 넣어 총량이 200  $\mu$ L가 되도록 하였다. 실온에서 10분간 반응시킨 후 ELISA reader (Tecan Group Ltd., Mannedorf, Switzerland)로 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거 활성은 시료 용액의 첨가군과 무첨가군 사이의 흡광도의 차이를 백분율로 나타내었다.

### DPPH 라디칼 소거 활성(%)

$$=(1-(\text{시료 첨가군 흡광도}/\text{시료 무첨가군 흡광도}))\times 100$$

### ABTS 라디칼 소거 활성 측정

ABTS 라디칼 소거능은 Re 등의 방법(21)에 의하여 측정하였다. ABTS 7.4 mM과 potassium persulfate 2.6 mM을 혼합한 다음 빛이 차단된 실온에서 24시간 동안 방치하여 radical을 형성한 다음 ABTS 용액을 실험직전에 732 nm에서 흡광도가 0.70 $\pm$ 0.03이 되도록 메탄올로 희석하여 사용하였다. 각 추출물과 Trolox의 최종농도가 31.25, 62.5, 125, 250, 500 및 1000  $\mu$ g/mL이 되도록 정량하여 50  $\mu$ L에 준비된 ABTS 용액 950  $\mu$ L를 첨가하여 암소에서 30분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS의 소거활성은 시료 용액의 첨가군과 무첨가군 사이의 흡광도의 차이를 백분율로 나타내었다.

### ABTS 라디칼 소거 활성(%)

$$=(1-(\text{시료 첨가군 흡광도}/\text{시료 무첨가군 흡광도}))\times 100$$

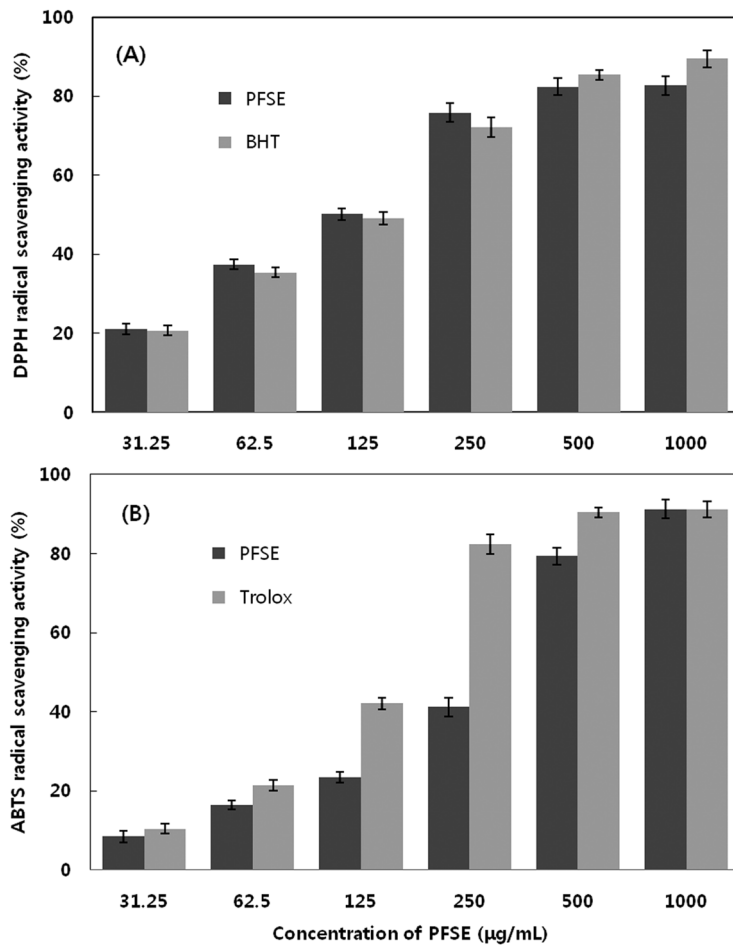
### 세포배양

인간의 비만세포주인 HMC-1은 (재)전주생물소재연구소(Jeonju, Korea)로부터 분양받았고, 설치류 유래 대식세포주인 RAW 264.7 세포는 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA)으로부터 구입했다.

설치류 유래 대식세포주인 RAW 264.7 세포는 10% 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS), penicillin G (100 IU/mL)와 streptomycin (100  $\mu$ g/mL)이 첨가된 RPMI 1640 배지(GIBCO-BRL, Invitrogen Co., Grand Island, NY, USA), 인간 유래 비만세포주인 HMC-1 세포는 10% 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS), 2-mercaptoethanol (50  $\mu$ M), penicillin G (100 IU/mL), streptomycin (100  $\mu$ g/mL)이 첨가된 DMEM 배지(GIBCO-BRL, Invitrogen Co., Grand Island, NY, USA)를 사용하였다. 세포( $2\times 10^5$  cells/mL)는 24 well 배양 플라스크에 접종하여 약 70% 성장이 도달 되었을 때 PFSE, aspirin을 처리하고 염증성 사이토카인을 측정하였다.

### 염증성 사이토카인의 억제능 측정

사이토카인의 측정은 PFSE나 aspirin을 2시간 동안 전 처리한 후 LPS (1  $\mu$ g/mL)로 RAW 264.7 세포를 자극한 후 18시간 후에 상층액을 취하였고 PMA (30 ng/mL)와 A23187 (10  $\mu$ M)로 동시에 HMC-1을 자극하여 12시간 배양 후 상층액을 취하여 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$  측정에 사용하였다. TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$  등은 anti-mouse



**Fig. 1.** Effect of ethanol extract from *Perilla frutescens* sprouts (PFSE) on DPPH radical and ABTS radical scavenging activity. (A): DPPH radical scavenging activity, (B): ABTS radical scavenging activity. Values are shown as mean±SD of 3 replicates.

TNF- $\alpha$ , anti-mouse IL-1 $\beta$  항체를 사용하여 각각에 특이적으로 작용하는 ELISA kit을 사용하여 R&D Systems사가 제공하는 방법에 준하여 측정하고 정량하였다. 요약하면, 세포상층액 100  $\mu$ L를 각각의 항체가 코팅된 plate에 주입하고 반응시킨 후 잘 세척한 다음 horseradish peroxidase가 부착된 2차 항체를 주입하고 반응시킨 후 발색 기질을 주입하고 반응시켜 ELISA reader로 측정하였으며, 각 물질에 대한 정량은 각각의 물질을 농도별로 처리하여 반응시켜 표준곡선을 정하고 세포 상층액에 함유된 물질의 양을 계산하였다.

**실험동물 및 식이**

귀 및 다리의 부종 실험에 사용할 동물모델 제작에 필요한 실험동물은 무균환경에서 사육된 6주령 수컷 ICR 마우스로 중앙실험동물(Seoul, Korea)로부터 구입하였다. 1주일의 순화기간을 거친 후 무작위로 군을 배정한 다음 실험에 사용하였다. 즉, ICR 마우스 50마리를 무작위로 나누어 대조군, PFSE군(각 50, 100, 200 mg/kg)과 aspirin군(50 mg/kg), 즉 5그룹으로 나누었다. 실험동물은 전 실험기간 동안 고행사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 사육환경 온도 23±3°C, 밤낮주기(12시간)가 조절되는 환경에서 사육하였으며 전주대학교 실험동물위원회의 실험 규정에 준하여 실행하였다.

**Ear edema 측정**

각각의 군에 PFSE를 경구투여하고 30분 후 귀에 xylene을 20  $\mu$ L씩 도포하였다. 도포가 완료된 후 1시간 뒤에 직경 9.0 mm의 ear punching으로 마우스의 귀 조직을 떼어내어 무게를 측정하였다.

**Paw edema 측정**

각각의 군에 PFSE를 경구투여하고 30분 후 1% carrageenan을 오른쪽 뒷다리에 100  $\mu$ L를 발바닥 표면으로 해서 피부내로 주입하고 1시간 후 발바닥의 두께를 측정하였다.

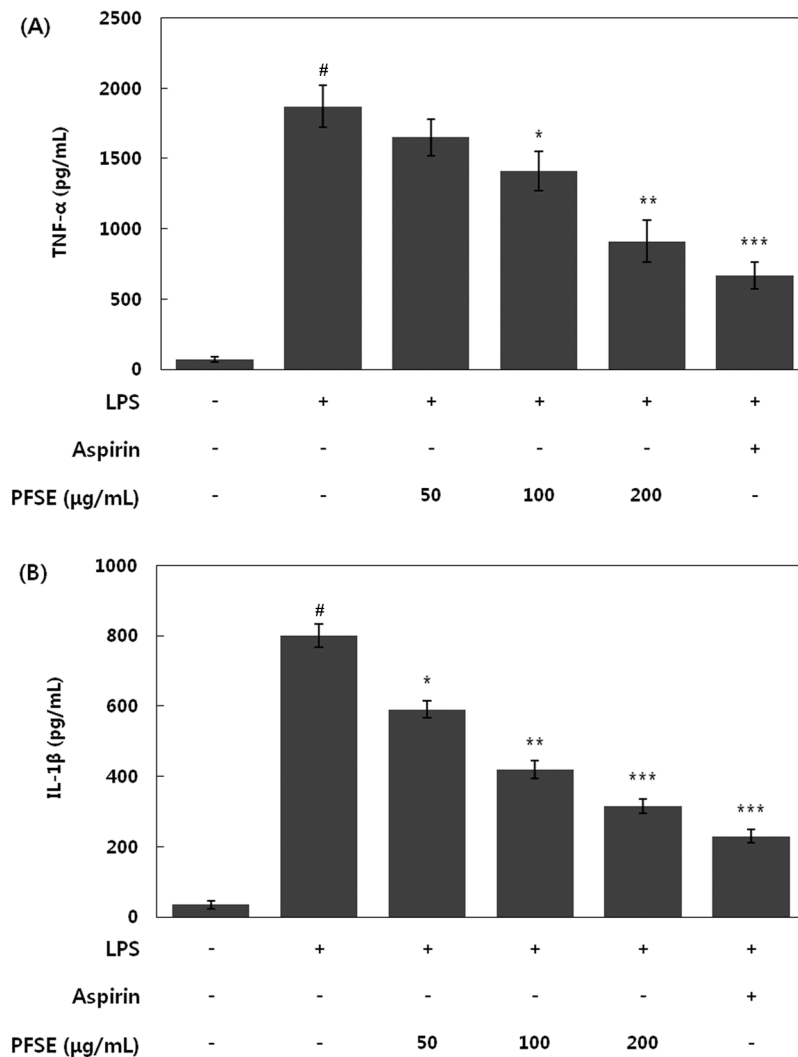
**통계처리**

모든 실험값은 평균±표준편차로 표시하였으며, 통계분석은 SPSS Statistics (version 20) Program을 이용하여 ANOVA와 Student's *t*-test로 처리하였으며, 유의성 한계는 *p*<0.05로 정하였다.

**결과 및 고찰**

**DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성에 대한 PFSE의 효과**

PFSE를 대상으로 DPPH 라디칼 소거 활성을 알아보기 위해 합성 항산화제로 잘 알려진 BHT와 비교하여 조사하였다. 그 결과 Fig. 1과 같이 31.25  $\mu$ g/mL의 저농도에서는 21±1.4%로 낮았으나,



**Fig. 2. Effects of PFSE on LPS-induced TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  production in RAW 264.7 cells.** (A): TNF- $\alpha$  production, (B): IL-1 $\beta$  production. RAW 264.7 cells were preincubated with or without the different concentration (50-200  $\mu$ g/mL) of PFSE or aspirin (50  $\mu$ g/mL) for 2 h. Then it was incubated with and without LPS (1  $\mu$ g/mL) for 12 h at 37°C. Cytokine was measured by ELISA assay. Values are means $\pm$ SD of three independent experiments. <sup>#</sup> $p$ <0.001 versus the non-treated control group. \* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01 and \*\*\* $p$ <0.001 versus LPS-treated control group.

농도가 증가할수록 그 활성이 증가되었고 500  $\mu$ g/mL 농도에서 82.3 $\pm$ 2.1%로 최대의 DPPH 라디칼 소거 활성을 보여 합성항산화제로 알려진 BHT와 비슷한 효능을 나타냈다.

PFSE를 대상으로 ABTS 라디칼 소거 활성을 알아보기 위해 항산화제로 잘 알려진 Trolox와 비교하여 조사하였다. 그 결과 Fig. 1과 같이 31.25  $\mu$ g/mL의 저농도에서는 8.4 $\pm$ 2.1%로 낮았으나, 농도가 증가할수록 그 활성이 증가되었다. 500  $\mu$ g/mL 농도에서 Trolox는 90.4 $\pm$ 1.2로 매우 높게 나타났고 PFSE 역시 79.4 $\pm$ 2.1%로 우수한 ABTS 라디칼 소거 활성을 보였고, 1,000  $\mu$ g/mL의 PFSE는 같은 농도의 Trolox와 같은 ABTS 라디칼 소거 활성을 보였다.

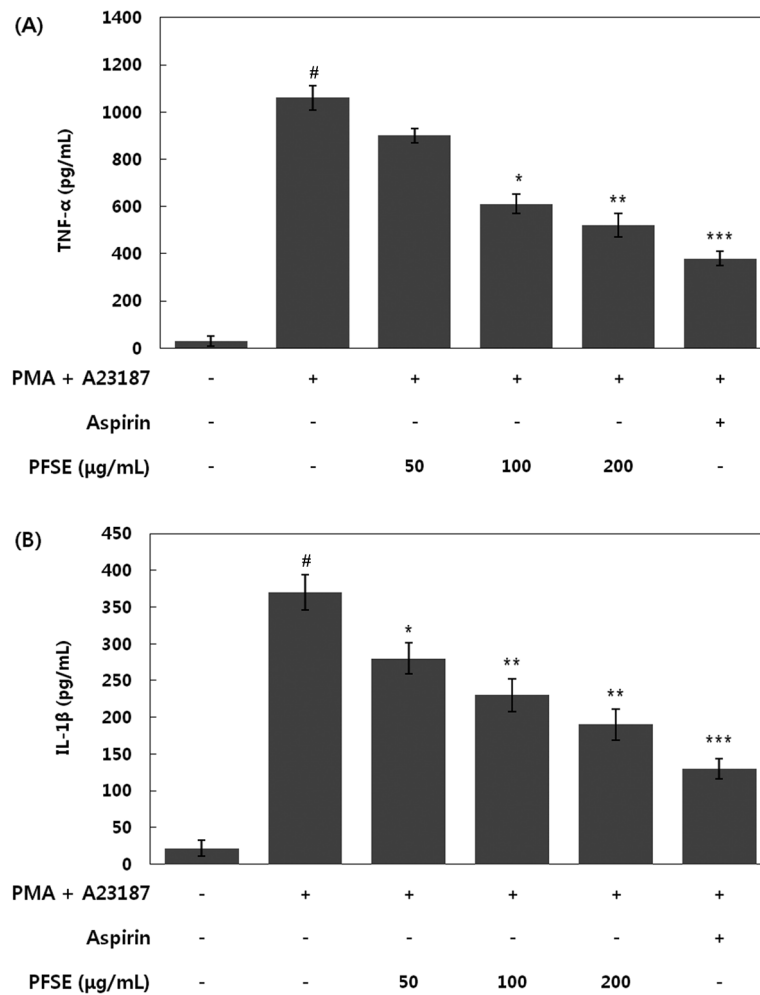
BHT와 Trolox 같은 합성 항산화제는 세포의 대사 및 호흡작용을 방해하며 발암성 및 독성이 강하다는 문제점이 보고되고 있어 부작용이 없는 대체 천연 항산화제의 개발이 필요하다(22). 그러므로 본 연구 결과 PFSE의 우수한 항산화 효과는 천연 항산화제로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

#### RAW 264.7 세포에서의 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 억제능력 측정

염증은 외부 자극에 의한 인체의 방어반응의 하나로 화학적 자극이나 물리적 자극에 의해 일어나는 생체 신호로 그 반응이 가중되면, 발열, 발진, 종창 등을 동반하면서 인체에 유해한 ROS를 대량 생성하여 조직을 치명적으로 손상시킨다(2,7,12,17). 염증이 일어나면 염증 세포에서는 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 와 IL-6 및 염증성 매개물질인 nitric oxide와 prostaglandin E<sub>2</sub>가 분비된다(17,18,23). 이러한 염증 매개물을 억제할 수 있는 PFSE의 효과를 알아보기 위하여 먼저 LPS로 자극된 RAW 264.7 세포를 대상으로 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$  생성량을 조사하였다(Fig. 2).

먼저, TNF- $\alpha$ 의 경우에는 시료농도 50  $\mu$ g/mL에서 LPS 처리군과 유의적인 차이를 나타내지 않았지만 농도가 높아질수록 TNF- $\alpha$ 의 생성이 억제되었다. LPS 처리군과 비교하여 100  $\mu$ g/mL에서는 23.3% ( $p$ <0.05), 200  $\mu$ g/mL에서는 50.4% ( $p$ <0.01)의 억제 효과를 나타내었다. Aspirin은 PFSE에 비해 개선효과가 좋았지만, PFSE의 최종농도인 200  $\mu$ g/mL에서는 aspirin과 비슷한 수준의 효과를 나타냈다.

IL-1 $\beta$  TNF- $\alpha$ 와는 다르게 50  $\mu$ g/mL에서도 LPS 처리군과 비교하여 유의적인 차이가 있었다. 또한 농도가 높아질수록 유의적으로 IL-1 $\beta$  생성이 억제되었다. 50  $\mu$ g/mL에서는 25.4%( $p$ <0.05),



**Fig. 3. Effects of PFSE on PMA plus A23187-induced TNF- $\alpha$  or IL-1 $\beta$  in HMC-1 cells.** (A): TNF- $\alpha$  production, (B): IL-1 $\beta$  production. HMC-1 cells were preincubated with or without the different concentration (50-200  $\mu$ g/mL) of PFSE or aspirin (50  $\mu$ g/mL) for 2 h. Then it was incubated with and without PMA (30 ng/mL) plus A23187 (10  $\mu$ M) for 12 h at 37°C. Cytokine was measured by ELISA assay. Values are means $\pm$ SD of three independent experiments. <sup>#</sup> $p$ <0.001 versus the non-treated control group. <sup>\*</sup> $p$ <0.05, <sup>\*\*</sup> $p$ <0.01 and <sup>\*\*\*</sup> $p$ <0.001 versus PMA plus A23187-treated control group.

100  $\mu$ g/mL에서는 41.4%( $p$ <0.01), 200  $\mu$ g/mL에서 53.4%( $p$ <0.001)의 억제 효과가 있었다(Fig. 2). 이러한 결과로부터 PFSE는 LPS로 자극된 RAW 264.7 세포로부터 염증을 매개하는 사이토카인 생성을 효과적으로 억제하는 결과를 나타냈다.

### HMC-1에서의 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 억제능력 측정

PFSE가 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$  염증성 사이토카인의 억제능을 확인하기 위하여 PMA와 A23187로 동시에 자극하여 HMC-1 세포의 상층액을 대상으로 사이토카인을 측정하였다. 먼저, TNF- $\alpha$ 의 경우에는 시료농도 50  $\mu$ g/mL에서 LPS 처리군과 유의적인 차이를 나타내지 않았지만 농도가 높아질수록 TNF- $\alpha$ 의 생성이 억제되었다. LPS 처리군과 비교하여 100  $\mu$ g/mL에서는 35.4%( $p$ <0.05), 200  $\mu$ g/mL에서는 43.4%( $p$ <0.01)의 억제 효과를 나타내었다.

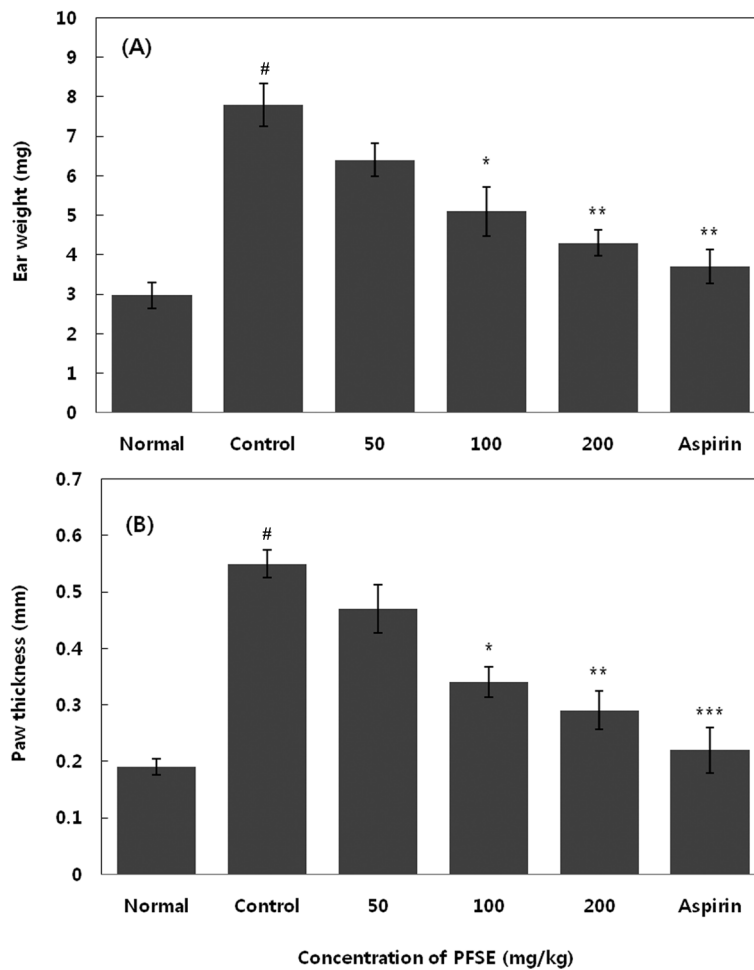
TNF- $\alpha$ 와 함께 PMA와 A23187의 자극에 의해 증가되는 염증성 사이토카인인 IL-1 $\beta$  TNF- $\alpha$ 와는 다르게 50  $\mu$ g/mL에서도 PMA와 A23187 처리군과 비교하여 유의적인 차이가 있었다. 또한 농도가 높아질수록 유의적으로 IL-1 $\beta$  생성이 억제되었다. PMA와 A23187 처리군과 비교하여 50  $\mu$ g/mL에서는 26.6%( $p$ <0.05), 100  $\mu$ g/mL에서는 36.9%( $p$ <0.01), 200  $\mu$ g/mL에서 48.4%( $p$ <0.01)의 억

제 효과가 있었다. Aspirin은 PFSE에 비해 개선효과가 좋았지만 PFSE의 최종농도인 200  $\mu$ g/mL에서는 aspirin과 비슷한 수준의 효과를 나타냈다. 이러한 결과로부터 PFSE는 PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포로부터 염증을 매개하는 사이토카인 생성을 효과적으로 억제하는 결과를 나타냈다(Fig. 3).

비만세포는 즉시형 및 지연형 과민반응 등 알레르기 반응에 참여하는 핵심 세포로 알려져 있는데(24,25), A23187, PMA, histamine과 compound 48/80과 같은 화학적 항원(chemical antigen)에 자극되면 활성화 되어 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6과 IL-8 등 염증성 사이토카인의 생성뿐만 아니라 histamine과 같은 가려움 유발물질을 방출하여(25-27) 가려움증이 촉진되어 피부장벽을 붕괴시켜 염증반응을 더욱 악화시킨다(28). 그러므로 염증반응을 억제하기 위해서는 비만세포의 활성을 차단하는 물질이 필요하다. 본 연구 결과 PFSE는 활성화된 비만세포의 염증 매개물을 억제시키는 우수한 효과가 있어 비만세포의 활성화에 따른 염증성 질환의 개선 또는 치료에 활용될 수 있는 소재라 사료된다.

### PFSE에 의한 ear 및 paw edema의 억제 효과

한편 설치류에서 xylene (29), carrageenan (30) 유도 급성 염증



**Fig. 4. Effects of PFSE on edema induced by xylene (ear) or carrageenan(paw).** (A): Ear weight, (B): Paw thickness. Mice were orally administrated with or without the different concentration of PFSE (50-200 mg/kg) or aspirin (50 mg/kg). Xylene (20  $\mu$ L) was dropped onto the anterior and posterior surfaces of the right ear. Carrageenan (100  $\mu$ L, 1%w/v) was injected into the right-hind paw (sub-plantar) after 30 min. The mice were sacrificed 1 h after the application xylene. An ear disc of 9.0 mm diameter was punched out of each ear and weighed. The paw volume was measured by caliper. Values are show as mean $\pm$ SD of n=5 mice. <sup>#</sup> $p$ <0.001 versus the non-treated control group. <sup>\*</sup> $p$ <0.05, <sup>\*\*</sup> $p$ <0.01 and <sup>\*\*\*</sup> $p$ <0.001 versus xylene or carrageenan-treated control group.

모델은 일반적으로 널리 사용되고 있는 실험방법이다. 그러므로 본 연구에서 PFSE가 염증에 어떠한 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 xylene이나 carrageenan을 도포하거나 주입하기 30분 전에 PFSE (50, 100, 200 mg/kg)를 구강 투여하고 한 시간 후 무게 및 두께를 조사하였다.

먼저 PFSE를 대상으로 xylene으로 유도된 귀 부종의 억제 효과를 알아보기 위해서 대조 약물인 aspirin과 비교하여 조사하였다. 그 결과 아무것도 처리하지 않은 대조군에서는 xylene에 의해 귀 조직의 무게가 상당히 증가하였지만, PFSE를 구강 투여한 군에서는 귀 조직의 무게가 감소하였다. PFSE를 50 mg/kg을 구강 투여한 군과 대조군에서는 유의적인 차이는 없었지만 농도가 증가 할수록 부종의 억제 효과가 증가하였다. 대조군과 비교하여 100 mg/kg에서는 34.61%( $p$ <0.05), 200 mg/kg에서는 44.87%( $p$ <0.01)의 억제 효과가 있었다. Fig. 4와 같이 최종농도인 200 mg/kg에서는 항염증효과가 우수하다고 알려진 aspirin (50 mg/kg, 52.56%)과 비슷한 억제 효과를 나타내었다( $p$ <0.01).

다음은 PFSE를 대상으로 carrageenan으로 유도된 발 부종의 억제 효과를 알아보기 위해서 aspirin과 비교하여 조사하였다. 아무것도 처리하지 않은 대조군에서는 carrageenan에 의해 발의 두께

가 상당히 증가하였지만, PFSE를 구강 투여한 군에서는 대조군에 비해 발의 두께가 감소하였다. 즉, Fig. 4의 귀 부종 억제 효과와 같이 PFSE 50 mg/kg를 구강 투여한 군과 대조군에서는 유의한 차이가 없었지만 농도가 증가할수록 부종의 억제 효과가 증가하였다. 대조군과 비교하여 100 mg/kg에서는 38.18%( $p$ <0.05), 200 mg/kg에서는 47.27%( $p$ <0.01)의 억제 효과가 있었다. PFSE 200 mg/kg에서는 항염증제로 알려진 aspirin과 유사하게 우수한 억제 효과를 나타냈다( $p$ <0.01).

그러나 aspirin은 비스테로이드성 항염제로 사용되거나 혈류개선에 사용되는 약물이지만, 출혈 위험증가, 위장장애와 같은 부작용이 보고되고 있어 이를 대체할 만한 천연 항염제의 개발이 필요한 실정이다(31). 이러한 PFSE의 항염증효과는 flavonoid 즉, polyphenol 계열의 화합물을 함유하고 있기 때문일 것이며, 이들 물질은 외부자극에 의한 염증 반응을 개선하는 기능이 우수하기 때문이라 사료된다.

## 요 약

본 연구는 들깨 새싹 추출물의 항산화, 항염증 및 항부종에 대

한 효과를 조사하였다. 들깨 새싹 추출물은 DPPH와 ABTS 라디칼을 효과적으로 제거하는 항산화 활성이 우수하였다. 또한 들깨 새싹 추출물은 활성화된 실리큐 유래 대식세포주인 RAW 264.7 세포와 인간 유래 HMC-1 세포의 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 를 효과적으로 억제하였다. 더욱이 마우스의 귀와 발 부종을 억제하는 우수한 효과가 있었다. 이러한 결과는 들깨 새싹 추출물은 항산화제로 사용될 수 있을 뿐만 아니라 항염증과 항부종에 효과적인 물질이라는 것을 제시해주었다. 이와 관련된 들깨 새싹 추출물의 기능성에 대해서는 앞으로 분자생화학적 수준에서 더 연구해야 할 필요성이 있는 것으로 사료된다.

### 감사의 글

이 논문은 2012년도 지역산업기술개발사업(과제번호: R0001375)으로 지식경제부의 지원을 받아 연구되었다. 또한 본 연구는 일부 농촌진흥청 연구개발사업(과제번호: PJ008613)의 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

### References

1. Tanaka H, Dinenna FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR. Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation* 102: 1270-1275 (2000)
2. Wiseman H. Dietary influences on membrane function: impotent in protection against oxidative damage and disease. *J. Nutr. Biochem.* 7: 2-15 (1996)
3. Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants - Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 3: 228-237 (2010)
4. Kawashima S. The possible role of lipoperoxide in aging. *Nagoya J. Med. Sci.* 32: 303-326 (1969)
5. Decker EA, Crum AD, Calvert JT. Differences in the antioxidant mechanism of carnosine in the presence of copper and iron. *J. Agr. Food Chem.* 40: 756-759 (1992)
6. Kang HJ, Mok JY, Cho JK, Jeon IH, Kim HS, Park JM, Jeong SI, Shim JS, Jang SI. Protective effects of leaf and flower extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* on oxidative damage in normal human erythrocytes and plasma. *Korean J. Pharmacogn.* 43: 66-71 (2012)
7. Cho W, Nam JW, Kang HJ, Windono T, Seo EK, Lee KT. Zedoarondiol isolated from the rhizoma of *Curcuma heyneana* is involved in the inhibition of iNOS, COX-2 and pro-inflammatory cytokines via the downregulation of NF- $\kappa$ B pathway in LPS-stimulated murine macrophages. *Int. Immunopharmacol.* 9: 1049-1057 (2009)
8. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and cotran pathologic basis of disease. 7th ed. W. B Saunders, Philadelphia, PA, USA. pp. 47-86. (2006)
9. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA, Kuby J. Innate Immunity. 6<sup>th</sup> ed. W.H. Freeman, New York, USA. pp. 52-73 (2007)
10. Allen EV. Lymphedema of the extremities: Classification, etiology and differential diagnosis: A study of three hundred cases. *Arch. Intern. Med.* 54: 606-624 (1934)
11. Harris SR, Hugi MR, Olivetto IA, Levine M. Clinical practice guidelines for the care and treatment of breast cancer: 11. Lymphedema. *Can. Med. Assoc. J.* 64: 191-199 (2001)
12. Bignotto L, Rocha J, Sepodes B, Eduardo-Figueira M, Pinto R, Chaud M, de Carvalho J, Moreno H Jr, Mota-Filipe H. Anti-inflammatory effect of lycopene on carrageenan-induced paw oedema and hepatic ischaemia-reperfusion in the rat. *Brit. J. Nutr.* 102: 126-33 (2009)
13. Hong ST, Son SY, Rho CW, Lee KH, Jueng JH, Park JS. Variations of protein and oil content and fatty acid composition in Korea perilla(*Perilla ocymoides* L.) collections. *Korean J. Intl. Agri.* 15: 329-335 (2003)
14. Choung MG. Comparison of major characteristics between seed perilla and vegetable perilla. *Korean J. Crop Sci.* 50(S): 171-174 (2005)
15. Namiki M. The chemistry and physiological functions of sesame. *Food Rev. Int.* 11: 281-329 (1995)
16. Kang MH, Min KS, Ryu SN, Bang JK, Lee BH. Effect of defatted sesame flour on oxidative stress induced by ethanol-feeding in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 907-911 (1999)
17. Khalil AW, Zeb A, Mahmmod F, Tariq S, Khattak AB, Shah H. Comparison of sprout quality characteristics of desi and kabuli type chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.). *LWT-Food Sci. Technol.* 40: 937-945 (2007)
18. El-Adawy TA. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. *Plant Food Hum. Nutr.* 57: 83-97 (2002)
19. Peroni DG, Bonomo B, Casarotto S, Boner AL, Piacentini GL. How changes in nutrition have influenced the development of allergic diseases in childhood. *Ital. J. Pediatr.* 38: 22-28 (2012)
20. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200 (1958)
21. Re R, Pelligrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
22. Kim EC, Ahn SY, Hong ES, Li GH, Kim EK, Row KH. Extraction of whitening agents from natural plants and whitening effect. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* 16: 348-353 (2005)
23. Zhang Z, Luo P, Li J, Yi T, Wang J, An J, Zhang H. Comparison of the antiinflammatory activities of three medicinal plants known as umeiduoluomii in Tibetan folk medicine. *Yakugaku Zasshi* 128: 805-810 (2008)
24. Nakae S, Suto H, Kakurai M, Sedgwick JD, Tsai M, Galli SJ. Mast cells enhance T cell activation: importance of mast cell-derived TNF. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 6467-6472 (2005)
25. Galli SJ. New concepts about the mast cell. *New Eng. J. Med.* 328: 257-265 (1993)
26. Mekori YA, Metcalfe DD. Mast cells in innate immunity. *Immunol. Rev.* 173: 131-140 (2000)
27. Hosoda M, Yamaya M, Suzuki T, Yamada N, Kamanaka M, Sekizawa K, Butterfield JH, Watanabe T, Nishimura H, Sasaki H. Effects of rhinovirus infection on histamine and cytokine production by cell lines from human mast cells and basophils. *J. Immunol.* 169: 1482-1491 (2002)
28. Takai T, Ikeda S. Barrier dysfunction caused by environmental proteases in the pathogenesis of allergic diseases. *Allergol. Int.* 60: 25-35 (2011)
29. Wang D, Wang S, Chen X, Xu X, Zhu J, Nie L, Long X. Antitussive, expectorant and anti-inflammatory activities of four alkaloids isolated from Bulbus of *Fritillaria wabuensis*. *J. Ethnopharmacol.* 139: 189-193 (2012)
30. Gilligan JP, Lovato SJ, Erion MD, Jeng AY. Modulation of carrageenan-induced hind paw edema by substance P. *Inflammation* 18: 285-292 (1994)
31. Miwa K, Kambara H, Kawai C. Effect of aspirinin large doses on attacks of variant angina. *Am. Heart J.* 105: 351-355(1983)