

## 적양배추 추출물의 항산화 및 항염증 활성

하 현 주<sup>1)</sup> · 이 춘 북<sup>¶</sup>

동아대학교 식품영양학과<sup>1)</sup> · 영산대학교 한국식품조리학과<sup>¶</sup>

## Antioxidant and Anti-inflammation Activity of Red Cabbage Extract

Hyun-Joo Ha<sup>1)</sup> · Chun-Bok Lee<sup>¶</sup>

Department of Food Science & Nutrition, Dong-A University, Busan, 604-714, Korea<sup>1)</sup>  
Department of Korean Food & Culinary Arts, Youngsan University, Busan, 612-743, Korea<sup>¶</sup>

### Abstract

This study investigated the anti-inflammatory and antioxidant effects of red cabbage extracts on RAW264.7 cells. Cell toxicity was determined by MTT assay. We evaluated the anti-inflammatory effects of red cabbage extracts by measuring nitric oxide (NO), inducible NOS (iNOS) production, and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression by Western blotting. Ethanolic and water extracts (0.25, 0.5, and 1.0 mg/mL) significantly suppressed LPS-stimulated production of NO. Two kinds of extracts reduced the expression of iNOS and COX-2 proteins. The present results show that red cabbage extract has potent anti-inflammatory effects on RAW264.7 cells. In addition, two kinds of extracts as well as various antioxidant activities such as 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzo thiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) radical scavenging activity, ferric reducing antioxidant power(FRAP). The total polyphenol and flavonoid contents of the ethanolic and water extracts from red cabbage were  $18.699 \pm 0.87$  and  $11.174 \pm 4.86$  mg GAE/g extract, respectively, and  $7.782 \pm 2.23$  and  $15.608 \pm 3.54$  mg CE/g extract. The ABTS radical scavenging activities of the ethanolic and water extracts and BHT were  $0.269 \pm 0.12$ ,  $0.212 \pm 0.22$  and  $1.235 \pm 0.07$  mM Trolox equivalent/mg extract, respectively. The FRAP values of the extracts were similar to those of BHT, which were used as a positive control. Therefore, red cabbage extract is considered as a good food material of functional foods for prevention against various diseases.

**Key words:** Red cabbage, Extracts, Antioxidant, Anti-inflammation, RAW264.7 cells, Functional food

### I. 서 론

적양배추는 일반 양배추보다 과당과 포도당, 라이신, 비타민 및 셀레늄이 풍부하다고 보고되고 있다(Plumb et al 1997). 특히 적양배추의 붉은 색을 내는 성분인 안토시아닌은 항산화 효능이 우수하여 자유라디칼 소거활성 및 항암, 항염증 활성이 우수한 것으로 알려져 있다(Zhu C et al

2000). 또한, 식품에서 다양한 생리활성뿐 아니라 중요한 착색제로도 사용된다고 보고되었다(Singh J et al 2006). 적양배추는 항노화(Heo HJ & Lee CY 2006), 콜레스테롤 저하활성(Komatsu W et al 1998), 항균작용(Lee SM et al 1997; Cha BC et al 1998), 심장 및 간 보호효능(Sankhari JM et al 2011), 그리고 당뇨유발 쥐로부터 기능회복작용(Kataya HAH & Hamza AA 2008) 등에 효능이

¶ : 이춘북, 010-5031-1943, lcb1952@ysu.ac.kr, 부산광역시 해운대구 필봉길 99 영산대학교 한국식품조리학과

있는 것으로 보고되고 있다. 또한, 적양배추는 베타카로틴과 루테인 등에 의해 눈의 황변성을 저하시키는 효능에 따라 눈을 보호하는 것으로 알려져 있다(Nam MK & Kang KJ 2013). 이미 컬러푸드에 대한 연구는 활발히 진행되는 단계로 안토시아닌이 풍부한 자색고구마를 이용하여 국수나 떡과 혼합하여 생리활성을 높인 식품 등의 연구(Ahn GJ 2010; Lee JS 2012)가 보고되었지만 적양배추 추출물이 항산화, 항염증 활성에 관한 연구는 아직 미흡한 실정이다.

생체 내 대사과정의 부산물로 연속적으로 반응하며 불안정하고 반응성이 특히 강한 활성산소종 및 자유라디칼은 과도하게 발생하거나 불균형 상태에서 세포나 조직이 손상을 받는 것으로 알려져 있다(Kim SY et al 1999; Cho YJ et al 2008). 세포나 조직의 손상은 지질을 산화시키고 단백질 변성을 유도하여 DNA 손상에 따라 당뇨, 염증, 심장질환, 노화와 각 장기의 손상 및 치매뿐 아니라 암 발병의 원인이 되기도 한다(Lee SJ et al 2012). 따라서 활성산소종에 따른 생체 불균형의 조절을 위해 항산화제의 소비가 증가하는 추세이다. 하지만 인공적인 합성 항산화제는 최근 여러 가지 부작용이 발표됨에 따라 천연항산화제에 대한 관심과 연구가 활발히 진행되고 있으며 특히, 식품 소재에서 항산화 물질 개발에 초점이 맞춰지고 있다(Lee SJ et al 2008).

이처럼 체내에 대한 산화적 요인은 염증을 유발하는데 특히 흡연이나 음주, 비만, 독성물질에 의해 증가하면서 만성질환을 유발하는 것으로 알려져 있다(Ryu JH et al 2003). 염증 반응이 만성적으로 일어날 때는 염증매개 물질이 과도하게 분비되어 암세포의 성장을 촉진하고 인슐린 저항성을 증가시키며 동맥경화를 악화시키는 등 다양한 병리학적 기전에 관여한다고 보고되고 있다(Nishida T et al 2007; Cheon YP et al 2009). 염증 반응에서 대식세포(macrophage)는 병원체에 반응하여 iNOS와 cyclooxygenase-2(COX-2)를 생합성하여 NO 및 prostaglandin E2(PGE2)를 생성한다

(Moncada S et al 1991; Storck M et al 1994; Wink DA & Mitchell JB 1998; Jin HJ et al 2010). 염증 반응이 일어나면 세포에서 iNOS의 발현이 증가하여 많은 양의 NO가 발생하고, 과생성된 NO는 조직의 손상, 유전자 변이, 신경 손상 등을 유발하여 염증 반응을 촉진시킨다(Yun HY et al 1996). Prostaglandin E2(PGE2)는 통증과 발열에 주로 관여하는 염증 인자로서 염증 반응이 일어나면 대식세포의 COX-2에 의해 생성된다(Wang MT et al 2007, Sarkar D et al 2008). 따라서, 본 연구에서는 NO를 포함하여 염증 반응에서 생성되는 물질 중 iNOS, COX-2의 생성 억제를 확인하여 항염증 효과를 확인함으로써 다양한 효능을 나타내는 적양배추 추출물의 항산화 및 항염증 효과를 실험을 통해 검증하여 생리 기능성 바이오 소재 개발 및 조리 연구를 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

적양배추는 2012년 6월 반여 농산물 시장(Busan, Korea)에서 구입하여 음건하고 분쇄기로 파쇄하여 사용하였다(Hanil, Seoul, Korea). Lipopolysaccharide(LPS)는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)사에서 구입하였다. 염증성 모델인 RAW264.7 세포는 활성측정을 위해 사용하였고 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 분양 받았다. 그리고 세포실험을 위해 사용된 시약인 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM), Fetal Bovine Serum(FBS), Penicillin Streptomycin은 Invitrogen()에서 구입하였다. 그 외에 모든 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다.

### 2. 열수, 에탄올 추출

실험에 사용된 시료 추출을 위한 용매는 물과 에탄올을 사용하였고 먼저 열수추출은 건조 분말

시료 20 g을 3차 증류수 500 mL을 첨가하여 70°C에서 60분 동안 3회 추출하였다. 추출물은 여과지(No. 11, Whatman, Maidstone, England)로 잔재물을 제거한 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하고 동결건조 하였다. 다음으로 에탄올 추출은 건조 분말 시료 20 g에 에탄올 500 mL를 첨가하여 20°C에서 120 rpm의 진탕기로 24시간씩 3회 추출한 후 농축하여 동결건조하여 시료화 한 후 -20°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

### 3. 총 폴리페놀 함량 측정

추출 시료 용액 1 mL에 3차 증류수 9 mL를 첨가한 후 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 넣고 혼합하여 실온에서 5분간 반응시켰다. 반응용액에 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 10 mL를 넣어 다시 혼합한 다음 3차 증류수로 25 mL로 정용하였다. 이 혼합 용액을 23°C에서 2시간 동안 정치한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성된 검량선으로 총 페놀화합물 함량을 계산하였다.

### 4. 총 플라보노이드 함량 측정

각 시료 및 표준용액 0.5 mL를 대조액과 시험용액으로 두 개의 시험관에 취하고, 에탄올 1.5 mL, 10% Aluminum nitrate(Yakuri pure chemicals Co., Ltd., Osaka, Japan) 0.1mL 및 1.0 M Potassium acetate(Junsei chemical Co., Ltd.) 0.1 mL, 증류수 2.8 mL를 잘 혼합 후 실온에서 40분간 정치하고 UV/Visible spectrophotometer(UV-2550, Shimadzu)를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하여 작성한 검량선으로부터 함량을 구하였다. 공시험의 경우 10% Aluminum nitrate 0.1 mL 대신 증류수 0.1 mL를 가하였고 이때 quercetin(Sigma)을 이용한 검량선은 quercetin의 최종농도가 0, 1, 5, 10 µg/mL가 되도록 하여 위와 같은 방법으로 415 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

### 5. ABTS 리디칼을 이용한 총 항산화력 측정

7.0 mM ABTS와 1.0 mM AAPH를 150 mM NaCl이 더해진 100 mM phosphate buffer(pH 7.4)와 함께 혼합하여 68°C water bath에서 30분 동안 열을 가하고 실온에서 10분 동안 방치하였다. ABTS 용액은 734 nm에서 흡광도 값이  $0.7 \pm 0.02$ 가 나오도록 buffer로 희석시켜 사용하였다. 시료 용액 20 µL에 흡광도 값을 맞춘 ABTS 용액 980 µL를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시키고, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 6. FRAP을 이용한 총 항산화력 측정

FRAP assay에 사용된 시약은 0.3 M Sodium acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM TPTZ, 그리고 20 mM FeCl<sub>3</sub> solution을 사용하였다. 미리 제조된 sodium acetate buffer, TPTZ 및 FeCl<sub>3</sub> solution을 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 37°C에서 10-15분간 incubation 시켜 FRAP reagent를 준비하였다. FRAP reagent 1.5 mL를 추출물 50 µL에 혼합하여 잘 섞어준 후 실온에서 30분간 방치한 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 7. 세포 배양

RAW264.7 마크로파지 세포의 배양은 DMEM 배지에 10% 불활성시킨 FBS를 첨가하고 항생제를 mL 당 10 µg 넣은 것을 사용하였다. 세포는 10~12번의 계대배양을 통해 세포가 안정된 상태에서 실험을 진행하였고 배양기의 온도는 37°C이었으며 CO<sub>2</sub>는 5%의 조건으로 사용하였다.

### 8. 세포 생존 분석

세포의 생존율은 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT) 환원 방법을 이용하여 측정하였다. 세포를 24-well plates에  $5 \times 10^4$  cells/mL 농도로 1.0 mL씩 분주한 뒤 24시간 동안 배양하고 각 시료를 최종 농도(0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 그리고 2.0 mg/mL)가 되도록

세포에 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 MTT 용액(5.0 mg/mL)을 가하고 37°C에서 4시간을 배양하여 MTT를 환원시켜 생성된 formazan이 배지에서 분리되지 않도록 배지를 제거하였다. DMSO를 200  $\mu$ L 분주하여 20분 동안 혼합한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(SECOMAM, Ales, 프랑스)(Lee SJ 2012).

## 9. NO 측정

LPS에 의해 손상된 세포로부터 생성된 nitrite를 측정하기 위하여 griess 반응을 이용하였다. MA JS 등(2010)의 방법을 응용하여 griess 시약의 diazogi가 nitrite를 만나면 분홍색으로 변하게 되는 색의 반응을 측정하였다. RAW264.7 세포를 24-well plates에  $5 \times 10^4$  cells/well이 되도록 분주하고 12시간 배양한 후 추출물을 0, 0.125, 0.25, 0.5 그리고 1.0 mg/mL과 LPS 0.1  $\mu$ g/mL의 농도로 동시 처리 또는 LPS 단독 처리하여 18시간을 배양하였다. Nitrite의 측정은 Griess reagent system을 이용하여 분석하였다.

## 10. 단백질 발현량 분석

단백질 발현량 분석은 Lee SJ 등(2012)의 방법에 준하여 진행하였다. RAW264.7 세포를 60 mm tissue culture dish에  $2 \times 10^5$  cells/well이 되도록 분주하고 24시간 동안 배양하였다. 배지를 제거한 후 추출물을 처리한 배지로 교환하고 24시간 배양한 후 PBS로 세척하였다. Lysis buffer 100  $\mu$ L을 첨가하여 세포를 용해시키고 원심분리하여 (4°C, 12,000 rpm, 20 min) 세포막 성분들을 제거하였다. 원심 분리하여 얻은 단백질은 bradford assay로 정량하였으며, 20  $\mu$ L의 단백질을 10%의 SDS-PAGE를 이용하여 전기 영동한 후, PVDF membrane에 옮겨 70 V에서 2시간 이상 transfer하였다. Transfer가 끝나면 ponceau에 담근 후 band를 확인하고 TBST로 5회 이상 세척한 후 꺼내서 5% skim milk로 overnight 시켜 항체의 비특이적 결합을 억제시켰다. 5회 washing 후 1차 an-

tibody(1:1000)를 1시간 동안 반응 시킨 후 다시 2차 antibody(1:1000)를 반응 시키고 ECL kit(Amersham Pharmacia, England)를 이용하여 발현량을 측정하였다. Band density는 LAS-3000 (Bid-rad, America)으로 확인하여 Image gauge로 수치화하였다.

## 11. 통계분석

모든 결과는 3회 반복 측정 후 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었으며, 유의성 검증은 Window용 SPSS 12.0 version을 이용하여 student *t*-test one way를 이용하였으며 Duncan's new multiple range test으로 사후검증 하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 총 페놀 및 플라보노이드 함량

페놀 화합물은 식물의 2차 대사산물의 주요 물질로서, 수산기를 가지는 방향족 화합물을 총칭한다. 이들의 단순 페놀, 페닐프로파노이드, 벤조산 유도체, 플라보노이드, 탄닌, 리그난 등의 다양한 종류로 대부분 식물에 존재한다. 페놀 화합물은 수산기를 통한 수소 공여와 페놀 고리 구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다(Panagiotis et al 2008). 일반적으로 항산화 활성은 페놀성 화합물이 원인물질로 관련되어 있는 것이 알려져 있어 gallic acid를 표준용액으로 하여 작성한 검정곡선으로부터 각 추출물의 총 페놀함량을 조사한 결과를 <Table 1>에 나타내었다. 열수 추출물의 총 페놀함량은  $11.174 \pm 4.86$  mg GAE/g extract, 에탄올 추출물은  $18.699 \pm 0.87$  mg GAE/g extract로 열수 추출보다 유기용매 추출에서 총 페놀함량이 높은 것을 확인하였다. Ismaile A 등(2004)이 보고한 열처리하지 않은 신선한 상태의 양배추의 총 페놀성 화합물 함량 1.11 g GAE/100 g값보다 높은 값을 나타내었다. 또한, 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 열수 추출물이  $15.608 \pm 3.54$  mg CE/g extract, 에

**<Table 1> Total polyphenol and flavonoid contents of red cabbage extract**

	Total polyphenol (mg GAE <sup>1)</sup> /g extract)	Flavonoid (mg CE <sup>2)</sup> /g extract)
Water extract	11.174 ± 4.86 <sup>a</sup>	15.608 ± 3.54 <sup>a</sup>
Ethanol extract	18.699 ± 0.87 <sup>b</sup>	7.782 ± 2.23 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> gallic acid equivalents

<sup>2)</sup> catechin equivalents

<sup>a,b</sup> Means in a column by different superscripts are significantly different at the 0.05 level by Duncan's multiple range test.

탄을 추출물이 7.782 ± 2.23 mg CE/g extract로 열수 추출물이 높은 함량임을 확인하였다. Bridle P·Thimberlake CF(1997) 연구에서는 적양배추는 다량으로 함유된 안토시아닌계열 성분에 의해 식품에서 우수한 항산화 작용뿐만 아니라 중요한 착색제로 사용되어진다고 보고하였다. 그러나 이러한 기능이 부각되었음에도 불구하고 적양배추의 생리활성적인 사례는 미흡한 실정으로 본 연구 결과는 식품학적으로 중요한 자료를 제공할 것으로 사료된다.

## 2. 항산화력 측정

항산화 측정 정도 비교법의 하나인 TEAC법은 Miller 등이 개발한 방법으로서 생체내의 항산화 효과뿐만 아니라 식물성 화학물질(phytochemicals)의 항산화 효과 측정에 현재 가장 광범위하게 사용되고 있는데(Ku KM et al 2009), 이 방법은 ABTS가 양이온 라디칼을 소거하는 항산화 능력을 평가한다(Lee MJ·Moon GS 2003). 적양배추의 에탄올 및 열수 추출물별로 항산화 효과를 비교한 결과는 <Table 2>와 같이 모두 활성을 나타내었으며, 에탄올 추출물에서 Trolox equivalent 값이 높게 나타났고 수치는 에탄올 추출물이 0.269 ± 0.12 mM Trolox eq./mg extract를 확인하였다. 또한, 열수 추출물의 경우 0.212 ± 0.22 mM Trolox eq./mg extract로 비교군으로 사용한 합성

항산화제인 BHT의 값이 1.161 ± 0.02 mM Trolox eq./mg extract와 비교하였을 때 적양배추의 유효 단일물질이 아닌 추출물로서 우수한 항산화력을 확인하였고 이는 충분히 천연자원을 활용한 합성 대체 항산화제의 응용이 가능할 것으로 사료된다.

FRAP assay는 철이 환원되는 항산화력을 측정하는데, pH 3.6에서 ferric (Fe<sup>3+</sup>) TPTZ complex가 ferrous (Fe<sup>2+</sup>) 형태로 환원될 때 발생하는 흡광도를 593nm에서 측정하여 환원력을 계산하는 방법으로 라디칼 소거 방식의 항산화 측정법과는 다른 메커니즘의 항산화 측정법이다(Lee MJ·Moon GS 2003). <Table 2>와 같이 에탄올 및 열수 추출물 모두 높은 활성을 확인하였으며 적양배추 에탄올 추출물의 경우 0.311 ± 0.17 mM FeSO<sub>4</sub> eq./mg extract였으며 열수 추출물의 경우 0.201 ± 0.09 mM FeSO<sub>4</sub> eq./mg extract를 확인하였고 비교군으로 사용한 합성 항산화제인 BHT의 결과가 1.084 ± 0.16 mM FeSO<sub>4</sub> eq./mg extract와 비교하였을 때 본 연구에서 사용한 식품소재의 항산화 단일 물질 분리 및 규명을 통해 천연 항산화제로서의 가능성이 있다고 판단되어진다.

## 3. 세포 생존 측정

적양배추의 열수 및 에탄올 추출물을 이용하여 마크로파지 세포인 RAW264.7를 이용하여 세포 독성을 측정하고자 MTT assay로 분석하였다. 두

**<Table 2> ABTS radical scavenging and FRAP activity of red cabbage extract**

	TEAC(mM Trolox eq./mg extract)	FRAP (mM FeSO <sub>4</sub> eq./mg extract)
Water extract	0.212 <sup>a</sup> ± 0.22	0.201 <sup>a</sup> ± 0.09
Ethanol extract	0.269 <sup>b</sup> ± 0.12	0.311 <sup>b</sup> ± 0.17

<sup>a,b</sup> Means in a column by different superscripts are significantly different at the 0.05 level by Duncan's multiple range test.

종류의 추출물이 모두 1.0 mg/mL까지는 약 100% 이상의 세포생존을 확인하였고(Fig. 1) 이 결과는 천연 소재가 세포주에 특별한 독성이 없다는 것을 의미한다. 또한, 추 후 연구를 수행하면서 추출물 처리 농도는 0.125, 0.25, 0.5 그리고 1.0 mg/mL를 선택하였다. 기존의 Ju YH 등(2000)은 적양배추 추출물을 암세포에 처리했을 때 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타냈다고 보고하였고 Nam MK · Kang KJ(2013)의 연구에서도 적양배추 에탄올 추출물이 높은 암세포 억제 활성을 확인하였다고 보고하였다. 본 연구는 염증성 질환 관련 마크로파지 세포를 이용한 결과로 다른 항산화 함암 관련 적양배추의 생리활성적인 측면에서 유사한 결과를 확인하였다.

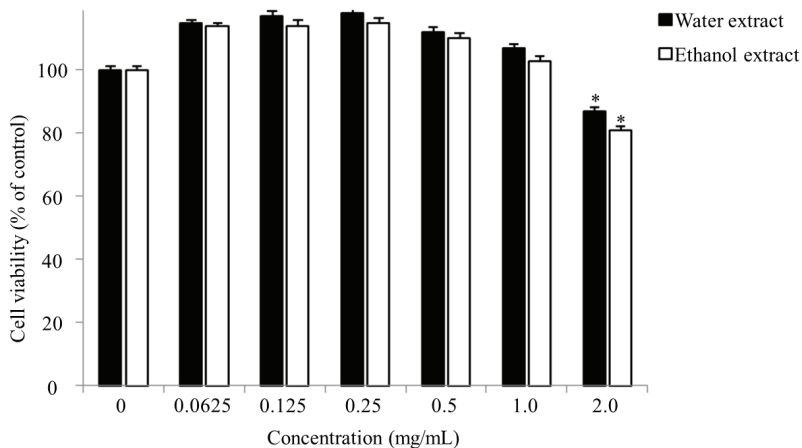
#### 4. NO 측정

본 연구에서는 항산화 활성을 나타내는 적양배추 추출물을 이용하여 마크로파지 세포에 처리하여 염증성 cytokine, NO와 같은 매개물질을 세균 내독소로 알려진 LPS에 대하여 저해 효능을 확인하고자 하였다. RAW264.7세포에 무처리군 대비 LPS(100 ng/mL) 단독 처리군에서는 약 7배의 NO

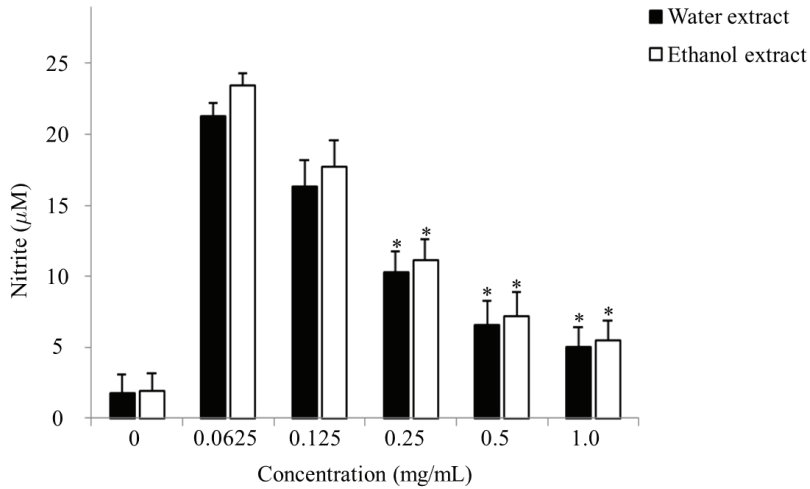
가 증가하였다. 반면, LPS와 적양배추 열수 추출물을 0.125, 0.25, 0.5 그리고 1.0 mg/mL 농도로 처리한 경우에는 농도 의존적인 NO 생성 저해 활성을 확인하였다(Fig. 2). 게다가, 0.25 ~ 1.0 mg/mL의 농도에서 유의적인( $p < 0.05$ ) 차이를 나타내었고 1.0 mg/mL의 고농도에서는 약 70% 이상 NO를 저해하였다. 에탄올 추출물에서도 이와 유사한 결과를 확인하였으나 열수 추출물의 활성 보다는 낮은 저해 효능을 나타내었고 두 추출물 간 큰 차이는 없었다. 기존에 Gamet-Payastre L 등(2000)은 적양배추가 속하는 십자화과 채소에서 발견되는 anthocyanin, indole-3-carbinol, sulforaphane 등이 높은 생리활성을 나타낸다고 보고하였고 이는 본 연구인 적양배추로부터 유효물질을 분리 및 동정하는 연구가 필요한 것으로 판단된다.

#### 4. Western blot법을 이용한 단백질 발현량 분석

지금까지의 결과를 바탕으로 적양배추 추출물의 NO생성에 영향을 미치는 iNOS와 COX-2의 세포내 단백질 발현억제에 관한 활성을 western



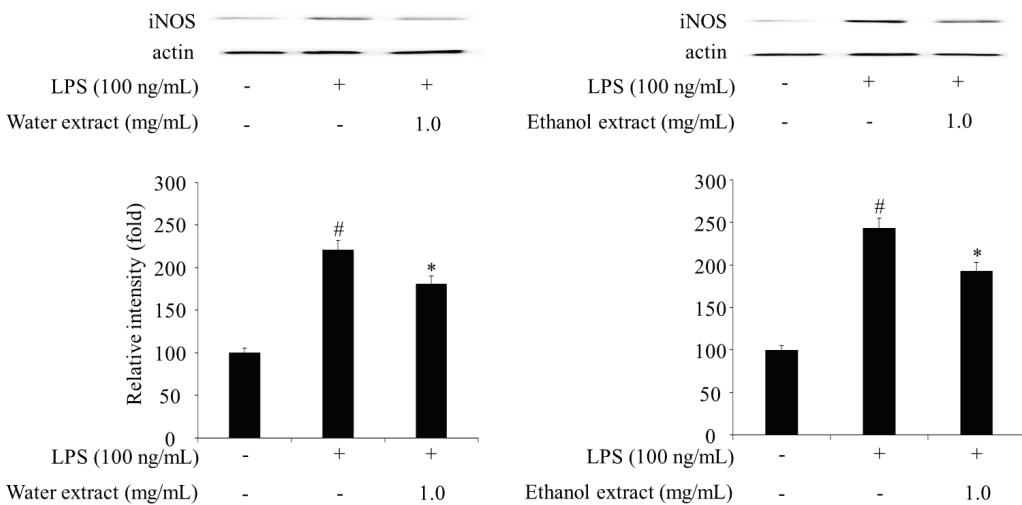
**<Fig. 1>** Effect of red cabbage water and ethanol extracts on cytotoxicity in RAW264.7 cells. Extract was treated with various concentrations in RAW264.7 cells for 24 hr. Values are mean  $\pm$  SD of determinations in each case.



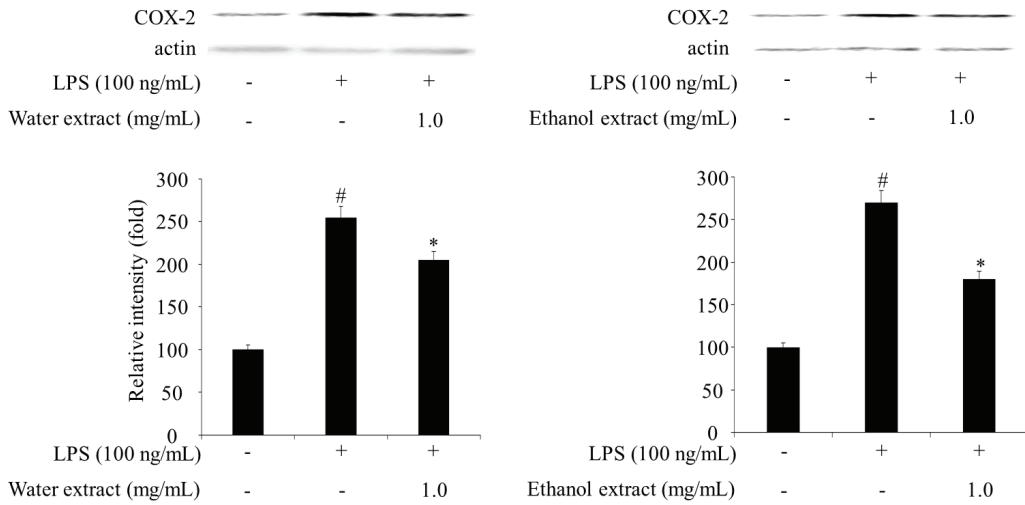
<Fig. 2> Effect of water extract from red cabbage on NO production in RAW264.7 cells were treated with 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/mL Values are mean ± SD of determinations in each case.

blot으로 명확하게 분석하였다. 마크로파지 세포에 LPS(100 ng/mL) 단독 처리군과 적양배추 열수 및 에탄올 추출물 1.0 mg/mL을 같이 처리하여 배양하였을 때 열수 추출물이 iNOS를 약 15% 저해하였고 에탄올 추출물이 약 25% 저해하였다(Fig. 3). 또한 COX-2는 열수 추출물이 약 20% 저해하

였으며 에탄올 추출물은 35%를 저해하였다(Fig. 4). 본 연구는 적양배추 추출물이 염증성 질환 세포주에 용이한 작용을 하는 것을 확인하는 것으로 iNOS의 발현억제를 통해 NO의 생성 저해를 유도하는 것을 나타낸다. 하지만 추가적으로 각 단백질 혹은 사이토카인을 조절하는 주요 인자에



<Fig. 3> Effect of extract from red cabbage on LPS-induced iNOS expression. \*(p<0.05) are significantly different as analyzed by paired t-test compared with LPS-stimulated group.



〈Fig. 4〉 Effect of extract from red cabbage on LPS-induced COX-2 expression.  $(p < 0.05)$  are significantly different as analyzed by paired *t*-test compared with LPS-stimulated group.

대한 연구가 필요하며 지금까지 결과들로 천연식품소재가 갖는 안정성을 강조하며 부작용 등의 문제에서도 자유로울 수 있을 것으로 판단되며 동물모델을 이용하여 연구를 폭 넓게 접근하여 조리업과 외식업계에 적양배추의 특성에 관한 과학적 데이터를 제시함으로써 적양배추의 정보를 알리면서 농가의 소득 및 매출증대에도 큰 영향을 미칠 것으로 예상되어지는 바이다.

#### IV. 결론 및 요약

본 연구는 적양배추의 항산화 및 세포단계에서 항염증 활성을 측정하기 위해 ABTS 및 FRAP 그리고 마크로파지 세포에서 NO생성 억제, 단백질 발현량을 분석하였다. 분석한 결과는 다음과 같다. ABTS 라디칼과 FRAP 모두 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 활성이 높았고 세포생존에는 1.0 mg/mL가 적정 농도임을 확인하였다. 추출물 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 mg/mL에서 NO생성 억제효능은 0.25, 0.5, 1.0 mg/mL에서 50%이상을 나타내었고( $p < 0.05$ ) 단백질 발현 분석에서 LPS처리군에 비해 추출물 처리군이 20~30% 저해하는

것을 확인하였다. 이미 컬러푸드에 관한 연구는 활발히 진행되는 추세로 본 연구에서 확인한 우수한 생리활성의 적양배추를 이용한 조리는 시각적, 미각적으로 시너지 효과를 볼 수 있을 것으로 사료되지만 적양배추에 관한 연구는 미흡한 실정으로 아직까지 명확하게 확립되어있는 단계가 아니기 때문에 본 연구 결과는 조리 및 식품학적인 기초지식을 제공 할 것으로 사료되어지고 좀 더 정확한 결과를 위해 동물모델을 이용한 생리활성 연구가 필요할 것으로 판단되어지며 유효단일물질의 분리 방법 확립 등이 추가적으로 필요할 것으로 판단된다.

#### 한글 초록

본 연구에서는 생리활성이 우수한 것으로 알려진 적양배추를 이용하여 에탄올 및 열수 추출을 하여 마크로파지 세포에 LPS로 유도하여 염증성 질환 모델에서 세포생존, NO생성 억제, 단백질 단계에서 iNOS와 COX-2의 발현을 분석하였고 항산화 활성 측정을 위해 ABTS 라디칼 소거능과 FRAP 활성을 확인하였다. 각 추출물의 세포생존,



NO생성 및 단백질 발현 분석에서 농도 의존적으로 LPS에 대해 억제 및 저해 효능을 확인하였고 특히 0.25, 0.5 그리고 1.0 mg/mL에서 유의적인 차이를 확인하였다. ABTS 라디칼 소거 및 FRAP 활성은 합성 항산화제인 BHT보다 활성이 좋지 않았지만 천연 항산화제로써의 가능성을 확인하였고 훌륭한 식품소재로서 기능성 식품 및 각종 질병에 대한 예방의 목적으로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 영산대학교 교내연구비 지원에 의해 연구되었음.

## 참고문헌

- Ahn GJ (2010). Quality characteristics of *Sulgidduk* prepared with amount of purple sweet-potato powder. *Korean Journal of Culinary Research* 16(1): 127~136.
- Arapitsas P, Sjöberga PJR, Turner C (2008). Characteristic of anthocyanins in red cabbage using high resolution liquid chromatography coupled with photodiode array detection and electrospray ionization-linear ion trap mass spectrometry. *Food Chem* 109(1): 219~226.
- Bridle P, Thimberlake CF (1997). Antocyanins as natural food colors-selected spectra. *Food Chem* 58(1-2): 103~109.
- Cha BC, Lee HW, Choi MY (1998). Antioxidative and antimicrobial effects of nut species. *Korean J Pharmacogn* 29(1): 28~34.
- Cheon YP, Mohammad LM, Park CH, Hong JH, Lee GD, Song JC, Kim KS. 2009. *Bulnesia sarmienti* aqueous extract inhibits inflammation in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *J Life Sci* 19(4): 479~485.
- Cho YJ, Ju IS, Chun SS, An BJ, Kim JH, Kim MU, Kwon OJ (2008). Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flowers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37(3): 276~281.
- Gamet-Payraastre L, Li P, Lumeau S, Cassar G, Dupont MA, Chevolleau S, Gasc N, Tulliez J, Tercé F (2000). Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon cancer cells. *Cancer Res* 60(5): 1426~1433.
- Heo HJ, Lee CY (2006). Phenolic phytochemicals in cabbage inhibit amyloid  $\beta$  protein-induced neurotoxicity. *Food Sci Technol* 39(4): 331~337.
- Ismaile, A., Marjan, Z. M., and Foong, C. W (2004) Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem* 87(4): 581~586.
- Jin HJ, Kim JS, Kang SS, Son KH, Chang HW, Kim HP (2010). Anti-inflammatory and anti-arthritic activity of the roots of *Sophora flavescens*. *J Ethnopharmacol* 127(3): 589~595.
- Ju YH, Carlson KE, Sun J, Pathak D, Katzenellenbogen BS, Katzenellenbogen JA, Helferich WG (2000). Estrogenic effects of extracts from cabbage, fermented cabbage, and acidified brussels sprouts on growth and gene expression of estrogen dependent human breast cancer (MCF-7) cells. *J Agric Food Chem* 48(10): 4628~4634.
- Kataya HAH, Hamza AA (2008). Red cabbage (*Brassica oleracea*) ameliorates diabetic nephropathy in rats. *J Evidence-Based Complementary Altern Med* 5(3): 281~287.
- Kim SY, Ryu KS, Lee WC, Ku HO, Lee HS, Lee KR (1999). Hypoglycemic effect of mulberry leaves with anaerobic treatment in alloxan-induced diabetic mice. *Korean J Pharmacogn*

- 30(2): 123~129.
- Komatsu W, Miura Y, Yagasaki K (1998). Suppression of hypercholesterolemia in hepatoma-bearing rats by cabbage extract and its component, S-methy-L-cysteine sulfoxide. *Lipids* 33(5): 499~503.
- Ku KM, Kim HS, Kim BS, Kang YH (2009). Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant Constituents. *J Appl Biol Chem* 52(2): 70~76.
- Lee CB (2012). Anti-inflammation activity of water extracts from *Hericium erinacium* among medicinal mushrooms. *Korean Journal of Culinary Research* 18(4): 233~242.
- Lee JS (2012). Quality characteristics of wet noodles added with freeze-dried purple sweet potato powder. *Korean Journal of Culinary Research* 18(5): 279~292.
- Lee MJ, Moon GS (2003). Antioxidative effects of Korean bamboo trees, Wang-dae, Som-dae, Maengjong-juk, Jolit-dae and O-juk. *Korean J Food Sci Technol* 35(6): 1226~1232.
- Lee SJ, Kim YS, Hwang JW, Kim EK, Moon SH, Jeon BT, Iron YJ, Kim JM, Park PJ (2012). Purification and characterization of a novel antioxidative peptide from duck skin by-products that protects liver against oxidative damage. *Food Res Int* 49(1): 285~295.
- Lee SJ, Sung NJ, Jeong HG, Shin JH, Chung YC, Seo JK (2008). Antioxidant activities of methanol extracts from *Prunella vulgaris*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37(12): 1535~1541.
- Lee SM, Rhee SH, Park KY (1997). Antimutagenic effect of various cruciferous vegetables in Salmonella assaying system. *J Food Hyg Safety* 12(4): 321~327.
- Ma JS, Kim WJ, Kim JJ, Kim TJ, Ye SK, Song MD, Kang H, Kim DW, Moon WK, Lee KH (2010). Gold nanoparticles attenuate LPS-induced NO production through the inhibition of NF- $\kappa$ B and IFN- $\beta$ /STAT1 pathways in RAW 264.7 cells. *Nitric Oxide-Biol Ch* 23(3):214~219.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43(2): 109~142.
- Nam MK, Kang KJ (2013). The effect of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra) extract on the apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42(1): 8~16.
- Nam MK, Kang KJ (2013). The effect of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra) extract on the apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42(1): 8~16.
- Nishida, T, Yabe Y, Fu HY, Hayashi Y, Asahi K, Eguchi H, Tsuji S, Tsujii M, Hayashi N, Kawano S (2007). Geranylgeranylacetone induces cyclooxygenase-2 expression in cultured rat gastric epithelial cells through NF- $\kappa$ B. *Dig Dis Sci* 52(8): 1890~1896.
- Plumb GW, Chambers SJ, Lambert N, Wanigatunga S, Williamson G (1997). Influence of fruit and vegetable extracts on lipid peroxidation in microsomes containing specific cytochrome P450s. *Food Chem* 60(2): 161~164.
- Ryu, JH, Ahn H, Kim JY, Kim YK (2003). Inhibitory activity of plant extracts on nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophage. *Phytother Res* 17(5): 485~489.
- Sankhari JM, Thounaojam MC, Jadeja RN, Devkar RV, Ramachandran AV (2011). Anthocyanin-rich red cabbage (*Brassica oleracea* L.) extract

- attenuates cardiac and hepatic oxidative stress in rats fed an atherogenic diet. *J Sci Food Agric* 92(8): 1688~1693.
- Sarkar D, Saha P, Gamre S, Bhattacharjee S, Hariharan C, Ganguly S, Sen R, Mandal G, Chattopadhyay S, Majumdar S, Chatterjee M (2008). Anti-inflammatory effect of allylpyrocatechol in LPS-induced macrophages is mediated by suppression of iNOS and COX-2 via the NF- $\kappa$ B pathway. *Int Immunopharmacol* 8(9): 1264~1271.
- Singh J, Upadhyay AK, Bahadur A, Singh B, Singh KP, Rai M (2006). Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata). *Sci Hort* 108(3): 233-237.
- Storck M, Schilling M, Burkhardt K, Prestel R, Abendroth D, Hammer C (1994). Production of proinflammatory cytokines and adhesion molecules in ex-vivo xenogeneic kidney perfusion. *Transpl Int* 7(Suppl 1): 647~649.
- Wang MT, Honn KV, Nie D (2007). Cyclooxygenases, prostanoids and tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 26(3-4): 525~534.
- Wink DA, Mitchell JB (1998). Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 25(4-5): 434~456.
- Yun HY, Dawson VL, Dawson TM (1996). Neurobiology of nitric oxide. *Crit Rev Neurobiol* 10(3-4): 291~316.
- Zhu C, Poulson HE, Loft S (2000). Inhibition of oxidative DNA damage in vitro by extracts of brussels sprouts. *Free Rad Res* 33(2): 187~196.

---

2013년 11월 06일 접수  
 2013년 12월 20일 1차 논문수정  
 2014년 01월 15일 2차 논문수정  
 2014년 02월 10일 3차 논문수정  
 2014년 03월 10일 논문게재확정