Journal of RADIATION INDUSTRY
Vol. 20, No. 1, pp. 23-28, 2026
https://doi.org/10.23042/radin.2026.20.1.23

Original article

감마선 조사 유래 클로로제닉산 유도체의 개 유래 대식세포주에서의 항염증 효능

이하늬[1] · 정경한[1] · 이승식[1] · 정병엽[1] · 배형우[1,*]

[1]한국원자력연구원 첨단방사선연구소

Anti-inflammatory Efficacy of Gamma-irradiation-derived Chlorogenic Acid Derivatives in Canine Macrophages

Hanui Lee[1], Gyeong Han Jeong[1], Seung Sik Lee[1], Byung Yeoup Chung[1], and Hyoung-Woo Bai[1,*]

[1]Advanced Radiation Technology Institute (ARTI), Korea Atomic Energy Research Institute (KAERI), Jeongeup 56212, Republic of Korea

ABSTRACT Chlorogenic acid is a major polyphenol known for its potent anti-inflammatory effects, but its pharmaceutical application is often hindered by low bioavailability and weak physiological activity. Gamma irradiation, a powerful molecular modification technique, offers a promising strategy to develop novel compounds with enhanced therapeutic effects. In this study, we successfully generated two novel derivatives, compound **1** and compound **2**, from CGA via gamma irradiation and investigated their anti-inflammatory properties in lipopolysaccharide-stimulated canine macrophages. Both compounds significantly and dose-dependently attenuated LPS-induced nitric oxide production and the secretion of the key inflammatory cytokines, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6. These results demonstrate that the gamma-irradiation-derived compounds effectively suppress multiple inflammatory pathways in canine macrophages. Our findings establish a strong scientific basis for the therapeutic potential of these novel derivatives for the prevention and clinical management of inflammatory diseases in veterinary medicine.

Key words: DH82 cells, Chlorogenic acid, LPS, TNF-α, Gamma-irradiation, Anti-inflammation

1. 서 론

염증 반응은 생체 조직의 손상이나 병원성 미생물 침입에 대한 선천면역의 핵심 방어 기전이며, 외부 위협으로부터 신체를 보호하는 필수적인 생리 과정이다[1]. 이 과정에서 활성화된 대식세포는 산화질소(NO), 프로스타글란딘 E_2 (PGE_2), 그리고 종양 괴사 인자 알파(TNF-α), 인터루킨-6 (IL-6)와 같은 강력한 염증성 사이토카인을 분비하여 방어 및 조직 복구 과정을 촉진한다. 그러나 이러한 염증 반응이 적절히 종결되지 않고 만성화되거나 과도하게 조절될 경우, 심각한 조직 손상과 함께 관절염, 만성 피부염, 암 등 광범위한 만성 염증성 질환을 초래한다[2,3].

최근 수의학 분야에서는 반려동물 인구 증가와 함께 개와 고양이에서 발생하는 만성 염증성 질환에 대한 관심이 높아지고 있으며, 이는 반려동물의 삶의 질 저하 및 수의학적 치료 비용 증가의 주요 원인이 되고 있다[4,5]. 따라서 안전하고 효과적인 항염증 치료제 및 기능성 소재 개발은 수의학 분야의 중요한 과제로 부상하고 있다. 염증 반응의 조절에서 대식세포는 중심적인 역할을 수행한다. 그람 음성 세균 유래 지질다당류(Lipopolysaccharide, LPS)는 대식세포의 톨 유사 수용체 4 (TLR4)를 강력하게 활성화시키는 대표적인 염증 유발 인자이며, 이로 인해 Nuclear Factor kappa B (NF-κB)와 같은 주요 전사 인자 활성화가 유도된다. 이 핵심 전사 인자의 핵 내 이동은 NO의 생성을 촉진시키며, 또한 PGE2와 같은 다른 염증 매개체 및 TNF-α, IL-6와 같은 사이토카인의 분비를 급증시킨다. 과도하게 생성된 NO와 사이토카인은 조직 손상과 기능 장애를 야기하는 핵심적인 원인이 된다[6,7].

클로로제닉산(Chlorogenic acid, CGA)은 커피, 과일, 채소 등에 풍부하게 존재하는 대표적인 폴리페놀 화합물로, 강력한 항산화, 항암 및 항염증 효과가 다양한 연구를 통해 보고되어 왔다[8].

ISSN 1976-2402 **http://www.ksri.kr/**

Copyright© 2026 by Korean Society of Radiation Industry

***Corresponding author:** Hyoung-Woo Bai
Tel: +82-63-570-3334, Fax: +82-63-570-3339, E-mail: hbai@kaeri.re.kr

Received 9 December 2025 **Revised** 24 March 2026 **Accepted** 25 March 2026

CGA는 강력한 항산화 활성을 기본으로, 항당뇨, 항비만, 항암 등 광범위한 생리 활성이 보고되면서 식의약품 분야에서 큰 잠재력을 인정받아 왔다[9,10]. 이러한 생리 활성 외에도, CGA는 구조적 변형을 통해 그 효능이 향상되거나 새로운 기능성이 발현되는 특성을 가진다. 실제로 최근 연구들은 사과 주스 유래 폴리페놀 산화효소에 의한 새로운 디하이드로다이머 생성, 또는 열처리 과정을 통한 강력한 항산화 및 항당뇨 특성 강화 등 다양한 구조 변형 연구를 보고하였다. 이러한 발견들은 CGA 유도체의 다재다능함과 활용 가능성을 시사하며, 천연물의 구조적 변형 연구의 중요성을 강조한다. 또한 과거 감마선을 조사한 커피 원두에서 CGA 함량이 감소했다는 보고는 CGA의 유도체 생성에 대한 면밀한 평가가 필수적임을 보여준다[11]. 특히 CGA 자체는 비교적 낮은 생체이용률과 특정 활성 강화를 위한 구조적 개선의 필요성이 지속적으로 제기되어 왔으며, 이는 활성 성분의 효율적인 활용을 저해하는 요인이었다[12-14].

이러한 한계를 극복하기 위해, 본 연구팀은 감마선 조사 기술을 CGA의 분자 구조를 변형시키는 혁신적인 방법으로 활용하였다. 감마선 조사는 화합물의 구조에 수산화기(-OH)와 같은 작용기를 도입하거나 구조적 변형을 유도하여, 모 화합물 대비 생리활성이 증진된 신규 유도체를 확보할 수 있는 강력한 분자 변형 플랫폼이다[15,16]. 최근 감마선 조사는 천연물의 화학 구조를 변화시키고 새로운 생리활성 화합물을 생성하는 효율적인 방법으로 최근 상당한 주목을 받고 있다. 이렇게 새롭게 형성된 화합물들은 종종 모 화합물에 비해 우월한 약리학적 특성을 나타낼 수 있다. 이전 연구들은 감마선의 조사가 구조적 변형을 유도하고 천연 유래 화합물의 생물학적 활성을 향상시키는 데 있어 편리하고 효과적인 접근 방식임을 강조해왔다[17-19]. 이전 연구에서 감마선을 조사한 CGA로부터 compound 1과 compound 2를 포함한 여러 신규 유도체를 성공적으로 확보하였다[20]. 반려동물 의약품 및 기능성 소재 개발을 위한 과학적 근거를 마련하기 위해, 이들 화합물의 항염증 효능이 개 유래 대식세포주(DH82) 모델에서 NO 생성 억제를 넘어 TNF-α, IL-6와 같은 주요 염증성 사이토카인 분비 억제라는 다층적인 기전을 통해 심층적으로 검증될 필요가 있다.

따라서, 본 연구는 감마선 조사 유래 CGA 유도체 compound **1**, 및 compound **2**의 항염증 효과를 LPS로 염증이 유도된 DH82 세포에서 다각적으로 비교 분석하는 것을 목적으로 한다. 우리는 NO 생성 및 TNF-α, IL-6 사이토카인 분비에 미치는 영향을 평가함으로써 이들의 핵심 염증 매개체 억제 기전을 규명하고, 궁극적으로 이 연구는 반려동물의 염증성 질환 개선을 위한 안전하고 효과적인 동물용 의약품 후보물질로서의 과학적 근거를 제시할 것이다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 화합물

실험에 사용된 CGA, LPS, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 시약, 및 Griess 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 세포 배양을 위한 DMEM, FBS, 및 penicillin/streptomycin은 Gibco (Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. 화합물의 역상 크로마토그래피 분석은 Shimadzu (Tokyo, Japan)사의 LC-10A 모델 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 시스템을 통해 진행되었다. 구조를 명확히 규명하기 위한 핵자기공명(NMR) 스펙트럼(1H, 13C, COSY, NOESY, HSQC, HMBC)은 Bruker (Karlsruhe, Germany)의 Avance NEO-600 기기를 사용하여 기록되었다. 분자량 측정은 ESIMS (Electrospray Ionization Mass Spectrometry) 분석을 통해 이루어졌으며, Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA)의 Vanquish UPLS System이 해당 분석에 활용되었다. 화합물 분리 및 정제는 YMC Co. (Kyoto, Japan)에서 제조한 YMC-gel ODS AQ 120S 충전제를 사용한 컬럼 크로마토그래피로 모든 분석 및 크로마토그래피에 사용된 용매는 특급 시약 등급을 사용하였다. PGE_2, TNF-α, IL-6, IL-10 ELISA kit는 R&D Systems (Minneapolis, MN, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2.2. CGA gamma-선 조사 및 화합물 분리

CGA을 초순수 또는 50% 메탄올 수용액에 10 mM 농도로 용해시킨 후, 용액 내 산소의 영향을 최소화하기 위해 30분 동안 질소 가스를 이용해 탈기 처리하였다. 이 용액을 밀봉한 후, Cobalt-60 감마선 조사 장치(한국원자력연구원 첨단방사선연구소)를 이용하여 50 kGy의 선량으로 조사하였다. 감마선 조사 후 생성된 혼합물은 역상 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 HPLC 분석 결과를 기반으로 주요 신규 생성물들이 포함된 분획들을 선택적으로 수집하였다. 분획 과정은 5% MeOH와 100% MeOH를 이동상으로 사용하여 기울기 용출법으로 진행되었다.

2.3. Compound 1,2의 화합물 분리 및 구조 동정

50 kGy의 선량으로 감마선을 조사하여 얻은 CGA 조사산물(1.3 g)은 Toyopearl HW-40 column (2.5 cm i.d.×45 cm)을 이용한 플래시 컬럼 크로마토그래피를 통해 H_2O/MeOH (100:0에서 20:80까지의 그래디언트, 이후 70% 아세톤, v/v)로 용출하여 총 여섯 개의 분획을 확보하였다. 이후 각 분획에 YMC gel ODS AQ 120-50S column (1.5 cm i.d.×42 cm 또는 44 cm)을 이용한 컬럼 크로마토그래피와 semi-preparative HPLC를 순차적으로 적용하여 신규 화합물 및 알려진 화합물들을 분리 정제하였다. HPLC 분석은 YMC-Pack ODS A-302 column (4.6 mm i.d.×150 mm; YMC Co., Kyoto, Japan)에서 수행되었다. 용매 시스템은 0.1% HCOOH/H_2O (Solvent A)와 MeCN (Solvent B)을 사용한 선형 그래디언트 방식으로 진행하였다. 구체적으로 MeCN을 20분 동안 50%까지 증가시킨 후, 30분 동안 100% MeCN에 도달하도록 설정하였다. 유속은 1.0 mL/min으로 유지

하였고, 화합물 검출은 280 nm 파장에서 진행하였으며, 컬럼 온도는 40°C를 유지하였다. 분리된 화합물들은 NMR을 포함한 다양한 기기분석을 바탕으로 구조를 동정하였다.

Compound **1**: HRESIMS *m/z* 439.1210 ([M+Na]+); ^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6.68 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-2′), 6.67 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5′), 6.55 (1H, dd, *J*=8.4, 2.4 Hz, H-6′), 5.11 (1H, ddd, *J*=10.2, 9.0, 4.8 Hz, H-5), 4.09 (1H, dt, *J*=3.0, 2.4 Hz, H-3), 3.61 (1H, dd, *J*=9.0, 3.0 Hz, H-4), 3.00 (1H, dt, *J*=7.8, 5.4 Hz, H-8), 2.95 (1H, dt, *J*=7.8, 6.0 Hz, H-7), 2.08 (1H, dd, *J*=14.4, 2.4 Hz, H-2ax), 1.97 (1H, overlap, H-2eq/H-6eq), 1.96 (1H, overlap, H-6eq), 1.83 (1H, dd, *J*=13.8, 10.2 Hz, H-6ax); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 177.1 (C-7), 146.0 (C-4′), 145.3 (C-3′), 133.4 (C-1′), 121.2 (C-6′), 116.7 (C-5′), 116.1 (C-2′), 76.2 (C-1), 72.0 (C-5), 71.3 (C-3), 73.5 (C-4), 38.7 (C-6), 38.1 (C-2), 52.9 (C-8), 48.4 (C-7), 174.1 (C-9), 65.4 (C-10), 62.8 (C-11).

Compound **2**: HRESIMS *m/z* 439.1210 ([M+Na]$^+$); ^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6.67 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-2′), 6.65 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5′), 6.54 (1H, dd, *J*=8.4, 2.4 Hz, H-6′), 5.10 (1H, ddd, *J*=10.2, 9.0, 4.8 Hz, H-5), 4.08 (1H, dt, *J*=3.6, 2.4 Hz, H-3), 3.52 (1H, dd, *J*=9.0, 3.6 Hz, H-4), 3.91 (1H, dd, *J*=10.8, 5.4 Hz, H-11), 3.82 (1H, dd, *J*=10.8, 8.4 Hz, H-11), 3.77 (1H, dd, *J*=10.8, 6.0 Hz, H-10), 3.74 (1H, dd, *J*=10.8, 6.0 Hz, H-10), 3.02 (1H, ddd, *J*=8.4, 5.4, 3.0 Hz, H-8), 2.88 (1H, dt, *J*=6.0, 3.0 Hz, H-7), 2.04 (1H, dd, *J*=14.4, 2.4 Hz, H-2ax), 1.98 (1H, dd, *J*=14.4, 2.4 Hz, H-2eq), 1.78 (1H, dd, *J*=13.8, 4.8 Hz, H-6eq), 1.63 (1H, dd, *J*=13.8, 10.2 Hz, H-6ax); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 177.2 (C-7), 146.1 (C-4′), 145.5 (C-3′), 133.4 (C-1′), 121.2 (C-6′), 116.9 (C-5′), 116.2 (C-2′), 76.4 (C-1), 72.1 (C-5), 71.6 (C-3), 73.8 (C-4), 38.9 (C-6), 38.3 (C-2), 53.2 (C-8), 48.7 (C-7), 175.2 (C-9), 65.6 (C-10), 63.2 (C-11).

2.4. 세포 배양 및 시료 처리

개 조직 유래 대식세포주 DH82는 American Type Culture Collection (ATCC)에서 분양받아 사용하였다. 세포는 10% FBS 및 1% penicillin/streptomycin이 첨가된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO_2 조건 하에서 배양하였다. 계대 배양은 80-90%의 컨플루언시에서 진행하였으며, 실험에는 10대 이하의 계대 수를 가진 세포를 사용하였다. 실험 직전, 세포는 5×10^4 cells/well의 밀도로 96웰 플레이트 또는 6웰 플레이트에 분주하고 24시간 안정화시킨 후, DMEM 배지를 FBS가 함유되지 않은 배지로 교체하여 혈청 기아 상태를 유지하였다. 시료는 LPS와 함께 처리하였으며 이후 24시간 동안 LPS와 시료를 동시 처리하여 염증 유도 및 억제 실험을 진행하였다.

2.5. 세포 생존율 측정(MTT Assay)

화합물의 비특이적 독성을 배제하고 항염증 활성의 유효성을 검증하기 위해 MTT assay를 독립적으로 실시하였다. 시료 처리된 세포에 MTT 용액(0.5 mg/mL in PBS)을 첨가하여 37°C에서 4시간 동안 배양하였다. MTT는 살아있는 세포의 미토콘드리아 내 탈수소 효소에 의해 보라색의 불용성 formazan으로 환원된다. 이후 상등액을 제거하고 생성된 formazan 결정을 Dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포 생존율은 무처리군 대비 백분율로 계산하였다[21].

2.6. 산화질소 (NO) 생성 분석

NO 생성 수준은 배양 상등액 내의 안정된 최종 산물인 아질산염 nitrite 농도를 측정하는 Griess 시약 분석법을 사용하여 정량하였다. 세포 배양 상등액 100 μL를 회수하여 Griess 시약(0.1% N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride in water and 1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid)과 1 : 1 비율로 혼합하고 실온의 암실에서 15분간 반응시킨 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrite의 농도 표준 곡선을 이용하여 상등액 내 아질산염 nitrite 농도를 정량하였다[22].

2.7. 염증성 사이토카인 측정(ELISA)

세포 배양 상등액을 회수하여 개 특이적인 PGE_2, TNF-α, IL-6 및 IL-10 정량 ELISA kit를 제조사의 프로토콜에 따라 측정하였다. 회수된 상등액을 희석하지 않고 사용하였으며, 표준 곡선 작성을 통해 각 사이토카인의 농도를 pg/mL 단위로 정량하였다. 측정은 450 nm에서 흡광도를 측정하여 진행하였다.

2.8. 통계처리

모든 실험 데이터는 최소 3회 이상의 독립적인 반복 실험을 통해 얻었으며, 결과는 Mean±SD로 표시하였다. 각 그룹 간의 통계적 유의성은 One-way ANOVA와 Student's t-test를 적용하였으며, *p*값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의미한 차이가 있는 것으로 판단하였다. 통계 분석은 GraphPad Prism (v. 9.0) 소프트웨어를 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 감마선 조사된 CGA 조사산물로부터 활성 물질의 분리

본 연구에서는 CGA의 메탄올 용액을 50 kGy의 선량으로 감마선 조사한 후, ODS gel을 고정상으로 적용한 순차적인 컬럼 크로마토그래피를 통해 정제하여 총 다섯 종류의 신규 화합물을 분리하였다. 각 단일 화합물은 1D·2D NMR 스펙트럼 및 ESIMS 스펙트럼 해석을 통해 구조를 동정하였다. 메탄올 용액의 radiolysis로 생성된 하이드록실 라디칼이 CGA의 카페익산 부위 내

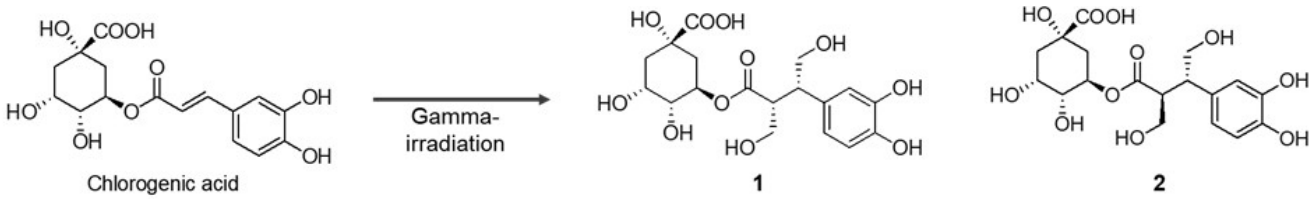

Fig. 1. Chemical structures of newly generated compound **1**, **2** of chlorogenic acid.

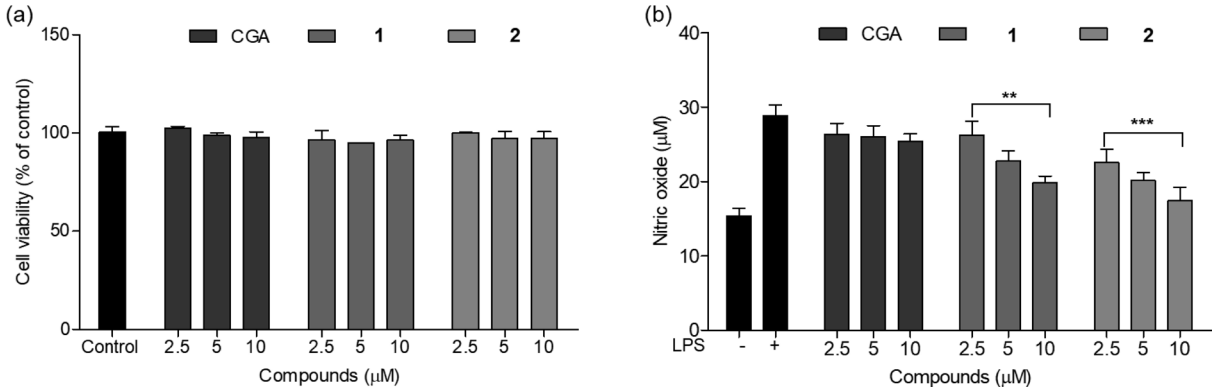

Fig. 2. Anti-inflammatory effects of isolated compounds on DH82 cells. (a) Effects of isolated compounds on the cell viability in DH82 cells. Cell viability detection by MTT assay in DH82 cells after treatment with samples for 24 h. (b) Effects of isolated compounds on nitric oxide in LPS-induced DH82 cells. The cells were treated with samples and the LPS (0.1 μg/mL) for 24 h. The nitrite content of culture media was analyzed. Values are mean±SD (n=3). *p<0.1, **p<0.01, ***p<0.001 relative to the CGA-treated group.

이중 결합에 부가 반응을 일으킴으로써 신규 유도체가 생성되었다[20]. CD (Circular Dichroism) 스펙트럼 분석 및 문헌치와의 비교를 통해 화합물 **1**은 threo 구조인 7S, 8R-dihydroxymethyl-caffeic acid와 (−)-quinic acid의 결합체인 클로로제노신 B로 명명되었으며, 화합물 **2**는 erythro 구조의 7S, 8S-dihydroxymethylcaffeic acid와 (−)-quinic acid의 결합체로 클로로제노신 A로 동정되었다(Fig. 1)[20]. HPLC chromatogram을 비교한 결과, 분리된 주요 신규 화합물들이 모두 감마선 조사된 CGA 조사산물 내에서 생성되어 검출됨을 확인하였다.

3.2. CGA 유도체의 NO 생성 억제 효능 및 세포 활성 검증

화합물 **1** 및 **2**의 세포 활성 및 NO 생성 억제 효능을 검증하기 위해 MTT assay와 Griess reagent assay를 수행하였다. 실험 결과, 두 화합물은 사용된 최고 농도에서도 95% 이상의 세포 생존율을 보여 세포 활성에 영향을 미치지 않았음을 확인하였다(Fig. 2a). NO 생성 억제 활성 평가를 통해 확인된 바와 같이, LPS 단독 처리군에서 NO 생성량이 무처리 대조군에 비해 약 10배 이상 현저하게 증가하여 DH82 세포에서 성공적인 염증 유도가 이루어졌음을 확인하였다. CGA 유도체는 LPS에 의해 증가된 NO 생성을 농도 의존적으로 유의하게 감소시켰다(Fig. 2b). 이러한 결과는 화합물 **1**과 **2**가 RAW 264.7 세포뿐만 아니라 개 유래 대식세포인 DH82 모델에서도 유의미한 NO 억제 활성을 나타냄을 보여준다. 특히, 모화합물인 CGA 대비 강화된 효능을 확인하였으며, 이러한 NO 감소 효과는 세포 독성과 무관한 선택적인 염증 억제 기전에 의한 것임을 입증하였다.

3.3. 주요 염증성 사이토카인 분비 억제 효과

염증 반응의 초기 및 증폭에 핵심적인 역할을 하는 매개체인 PGE_2, TNF-α, IL-6 및 IL-10의 분비 변화를 ELISA를 통해 정량적으로 분석하였다. 실험 결과, LPS 처리에 의해 급증했던 PGE_2, TNF-α와 IL-6는 화합물 **1**과 **2**의 처리에 의해 농도 의존적으로 유의미하게 억제되었다(Fig. 3a-c). 한편, 염증 해소에 관여하는 IL-10 역시 LPS 유도군 대비 감소하는 경향을 보였는데, 이는 본 화합물들이 단순히 특정 인자만을 차단하는 것이 아니라 LPS로 촉발된 대식세포의 과도한 염증성 활성 상태를 전반적으로 진정시킴으로써 면역 항상성을 회복시키는 과정으로 해석된다(Fig. 3d). 이러한 결과는 두 화합물이 단일 표적이 아닌 NO 및 PGE_2 경로, 그리고 사이토카인 경로를 동시에 제어하는 다중 표적 항염증 활성을 가짐을 강력하게 시사한다.

4. 요 약

본 연구는 감마선 조사 기술을 통해 CGA으로부터 새롭게 유도된 화합물인 compound **1** 및 **2**의 항염증 활성을 반려동물의 염

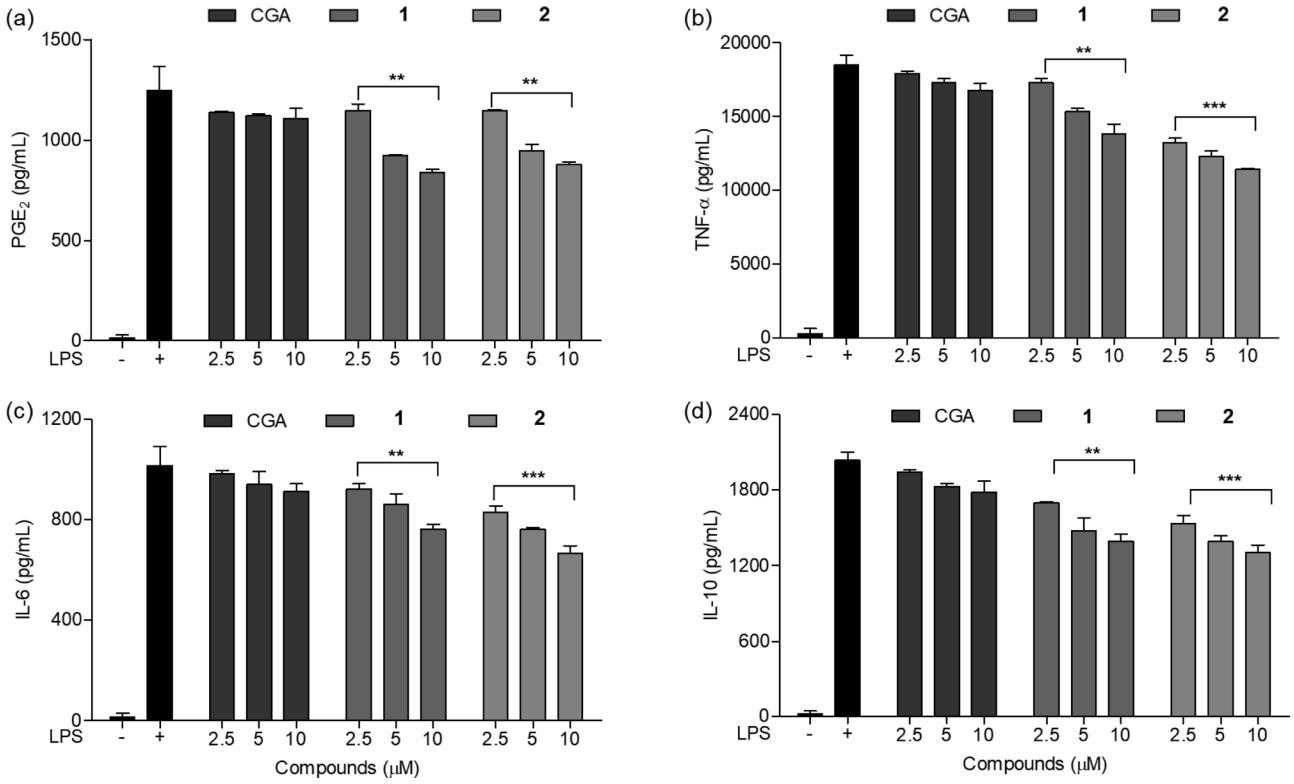

Fig. 3. Effects of isolated compounds on cytokines in LPS-induced DH82 cells. Expression of (a) PGE_2, (b) TNF-α, (c) IL-6, and (d) IL-10 levels were measured using ELISA assay. The cells were treated with various concentrations of samples followed by treatment with the LPS (0.1 μg/mL) for 24 h. Values are mean±SD (n=3). $^{**}p<0.01$, $^{***}p<0.001$ relative to the CGA-treated group.

증 반응을 효과적으로 반영하는 DH82 개 대식세포주 모델에서 심층적으로 검증하고자 수행되었다. 연구 결과, 우리는 두 신규 화합물 모두 세포 독성이 없는 안전한 농도 범위 내에서 LPS에 의해 유도된 염증 반응을 강력하게 억제하는 것을 확인하였다. 구체적으로, 화합물 **1**과 **2**는 염증의 핵심 매개체인 NO의 생성을 농도 의존적으로 유의하게 감소시켰으며, 특히 두 화합물 모두 CGA보다 일관되게 우수한 NO 생성 억제 효능을 나타냈다. 또한, 두 화합물은 염증 반응의 확산 및 만성화에 결정적인 역할을 하는 주요 전염증성 사이토카인인 PGE_2, TNF-α, IL-6 및 IL-10의 분비 역시 효과적으로 차단하였다. 이러한 결과는 단지 NO 생성 억제를 넘어, 염증 반응의 상위 신호 전달 축과 핵심 매개체를 모두 조절하는 다중 표적 항염증 활성을 가짐을 강력하게 시사한다. 화합물 **1**과 **2**의 입체 구조적 차이는 분자 내 수소 결합 세기와 지질 친화성에 변화를 주어 세포막 투과 효율에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 물리화학적 특성의 차이가 대식세포 모델에서의 항염증 활성 강도 차이를 유발하는 핵심 요인으로 판단되며 실제로 선행 연구를 통해 두 화합물 간의 미세한 효능 차이를 관찰할 수 있었다[20].

종합적으로, 본 연구 결과는 감마선 조사와 같은 분자 변형 기술이 기존 천연 화합물(CGA)의 생리 활성을 효과적으로 증진시키는 새로운 기능성 유도체를 발굴하는 데 매우 유망한 전략임을 입증한다. 특히 DH82 세포를 이용한 개 모델에서의 성공적인 효능 검증은 감마선 유도 CGA 유도체들이 반려동물의 관절염, 만성 피부염 등 염증성 질환의 예방 및 치료를 위한 안전하고 효과적인 기능성 원료 또는 신규 후보 의약품 으로서의 높은 잠재력을 보유하고 있음을 과학적으로 뒷받침한다. 향후 연구에서는 본 연구에서 확인된 *in vitro* 활성을 바탕으로, *in vivo* 수준에서 만성 염증 모델에 대한 효능 및 안전성을 평가하는 후속 임상 연구가 조속히 진행되어야 할 것이다. 아울러, NF-κB, MAPK 경로 등 염증 신호 전달 경로에 대한 정밀한 분자 기전 연구를 병행하여 작용 메커니즘을 명확히 규명함으로써, 이들 화합물의 치료적 활용 가치를 더욱 확고히 할 필요가 있다.

사 사

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Ministry of Science and ICT (Grant No. RS-2025-02613113).

참고문헌

1. Van Dyke TE, Kornman KS. 2008. Inflammation and factors that may regulate inflammatory response, *J. Periodontol.* **79**:1503-1507.
2. Sherwood ER, Toliver-Kinsky T, 2004, Mechanisms of the inflammatory response, *Best practice & research Clinical anaesthesiology* **18**(3):385-405.
3. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L. 2017. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs, *Oncotarget* **9**(6):7204.
4. Abdulkhaleq L, Assi M, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap Y, Hezmee M. 2018. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review, *Veterinary world* **11**(5):627.
5. Pezzanite LM, Chow L, Strumpf A, Johnson V, Dow SW. 2022. Immune activated cellular therapy for drug resistant infections: rationale, mechanisms, and implications for veterinary medicine, *Veterinary Sciences* **9**(11):610.
6. Kuzmich NN, Sivak KV, Chubarev VN, Porozov YB, Savateeva-Lyubimova TN, Peri F. 2017. TLR4 signaling pathway modulators as potential therapeutics in inflammation and sepsis, *Vaccines* **5**(4):34.
7. Kobayashi Y. 2010. The regulatory role of nitric oxide in proinflammatory cytokine expression during the induction and resolution of inflammation, *J. Leukoc. Biol.* **88**(6):1157-1162.
8. Olthof MR, Katan MB, Hollman PC. 2001. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans, *The Journal of nutrition* **131**(1):66-71.
9. Naveed M, Hejazi V, Abbas M, Kamboh AA, Khan GJ, Shumzaid M, Ahmad F, Babazadeh D, FangFang X, Modarresi-Ghazani F. 2018. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research, *Biomed. Pharmacother.* **97**:67-74.
10. Miao M, Xiang L, 2020, Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid, *Adv. Pharmacol.* **87**:71-88.
11. Deshpande S, Aguilar A. 1975. Effects of roasting temperatures and gamma irradiation on the content of chlorogenic acid, caffeic acid and soluble carbohydrates of coffee, *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes* **26**(11):656-661.
12. Pierpoint W. 1966. The enzymic oxidation of chlorogenic acid and some reactions of the quinone produced, *Biochem. J.* **98**(2):567.
13. Castillo-Fraire CM, Pottier S, Bondon A, Salas E, Bernillon S, Guyot S, Poupard P. 2022. NMR structural elucidation of dehydrodimers resulting from oxidation of 5-O-caffeoylquinic acid in an apple juice model solution, *Food Chem.* **372**:131117.
14. Hwang SH, Zuo G, Wang Z, Lim SS. 2018. Novel aldose reductase inhibitory and antioxidant chlorogenic acid derivatives obtained by heat treatment of chlorogenic acid and amino acids, *Food Chem.* **266**:449-457.
15. Yamaguchi H, Uchihori Y, Yasuda N, Takada M, Kitamura H. 2005. Estimation of yields of OH radicals in water irradiated by ionizing radiation, *J. Radiat. Res. (Tokyo)* **46**(3):333-341.
16. Getoff N, Ritter A, Schwörer F, Bayer P. 1993. Primary yields of CH3• O and • CH2OH radicals resulting in the radiolysis of high purity methanol, *Radiat. Phys. Chem.* **41**(6):797-801.
17. Song H-Y, Kim K-i, Han JM, Park WY, Seo HS, Lim S, Byun E-B. 2022. Ionizing radiation technology to improve the physicochemical and biological properties of natural compounds by molecular modification: A review, *Radiat. Phys. Chem.* **194**:110013.
18. Jeong GH, Kim TH. 2017. Hydroxymethylation of rutin induced by radiolysis as novel α-glucosidase inhibitors, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **65**(7):678-682.
19. Jo C, Yoon KY, Jang EJ, Kim TH. 2016. Degradation products of mangiferin by gamma irradiation with inhibitory effects on NO production, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **80**(10):2022-2024.
20. Jeong GH, Lee H, Lee K-B, Chung BY, Bai H-W. 2024. Molecular modification of chlorogenic acid via radiolysis with inhibitory effects on NO production, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **88**(11):1261-1269. https://doi.org/10.1093/bbb/zbae123.
21. Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD. 2018. Analysis of cell viability by the MTT assay, *Cold spring harbor protocols* **2018**(6):pdb.prot095505.
22. Sun J, Zhang X, Broderick M, Fein H. 2003. Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay, *Sensors* **3**(8):276-284.