

복분자 추출물의 항산화활성 및 인간 위암 세포주에 대한 유전적 손상 유도

전상경^{1,2} · 이지원^{1,2} · 이인선^{2*}

¹계명대학교 식품가공학과, ²계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터

Received November 7, 2007 / Accepted December 4, 2007

Effect of Antioxidant Activity and Induction of DNA Damage on Human Gastric Cancer Cell by *Rubus coreanus* Miquel. Sang-Kyung Jeon^{1,2}, Ji-Won Lee^{1,2} and In-Seon Lee^{2*}. ¹Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea, ²The Center for Traditional Microorganism Resources Center, Keimyung University 704-701, Korea - *Rubus coreanus* Miquel (RCM), a type of red raspberry, grows wild in Korea and China and its unripe fruit is used as a folk medicine for the treatment of impotence and as a diuretic. RCM was extracted with methanol and then further fractionated it into for different types. In this study, we investigated the antioxidant activity of a RCM extract (ext.) and its fraction (fr.). DPPH free radical scavenging activity assay, total polyphenols contents, total flavonoids contents assay were used to analyze antioxidant activity. The DPPH free radical scavenging activity (RC₅₀: 1.67 µg/ml) and total polyphenols contents (546.25 µg/mg) were higher in butanol fraction than in other fr. And total flavonoids contents was higher in ethylacetate fr. (141.78 µg/mg). We applied comet assay to measure the DNA damage in the individual cells and exposed time course at IC₅₀. Comet assay is a rapid and sensitive fluorescent microscopic method to examine DNA damage and repair at individual cell level. The butanol fr. from RCM significantly induced 54.12%, 57.95% of DNA damage after treated RCM for 8 hr. In conclus

Key words : *Rubus coreanus* Miquel, comet assay, antioxidant activity, DNA damage, gastric cancer cells

서 론

최근 들어 인간의 수명이 증가하고 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 여러 측면에서 노화억제와 건강 유지를 위한 기능성 생리활성 물질에 대한 연구가 미생물과 식물분야에서 광범위하게 연구되고 있다[12]. 인간을 비롯한 모든 생물체들은 공기 중의 산소를 이용하여 생명 유지에 필요한 에너지를 발생하는 과정에서 활성산소(¹O₂, H₂O₂, -OH)들의 상해에 대한 근본적인 자기 방어 기구를 가지고 있다. 그러나 생체방어기구에 이상이 초래되거나 각종 물리, 화학적 요인들에 의해 활성산소의 생성이 증가되면 생체 내 산화적 손상을 받게 되며, 조직의 방어 기구에서 해리 되지 못한 활성산소는 광범위한 생체 현상에 관여하여 직접 또는 간접적으로 생체에 장애를 일으키는 것으로 알려져 있다[20].

현재까지 다양한 연구를 통해 암 발생은 산화적 스트레스로 인한 세포 내 DNA 손상과 깊은 관련이 있는 것으로 밝혀지고 있으며, 자유기에 의한 지방질 산화 및 DNA의 손상을 억제시키는 방법으로 항산화제의 첨가가 효과가 있는 것으로 증명되면서 다수의 연구가 천연 또한 합성 항산화제인 BHA (butylated hydroxy anisole)와 BHT (butylated hydroxy toluene)가 각종 식품에 첨가되어 사용되고 있으나 장

기 식용에 따른 부작용으로 변이성 및 독성이 지적되어 안전하고 효력이 강한 항산화제를 찾으려는 연구가 천연물을 중심으로 활발하게 이루어지고 있다[4,5,21]. 그러나 아직 항산화 물질이 포함된 천연물에 관한 세포수준에서의 유전독성학적 비교 연구는 국내외적으로 거의 이루어져 있지 않고 있으며 식품 추출물의 유전적 손상 유도 효과를 살펴본 연구는 brussels sprouts[2]와 김치[7]의 항 유전손상 효과를 살펴본 것 외엔 거의 없다.

한편, 암은 이러한 활성 산소를 비롯하여 스트레스, 공해, 화학약품 등 여러 환경적 요인들에 의해 발생되고 있으며 전 세계적으로 인간의 생명과 복지를 위협하는 가장 중요한 요인으로 지목되고 있다. 현대 사회에서 암 발생률은 급격한 산업발달과 식생활의 변화 등으로 과거에 비해 현저히 증가되었고, 또한 전 세계적으로 암환자의 비율이 매년 증가하는 추세를 보이고 있다[9]. 암은 세계적으로 유력한 사망원인으로 보고되고 있는데, 보건복지부 국가 암 관리 사업 연구에 따르면 2005년 우리나라 전체 사망자 중 약 6천 5백여 명이 암으로 사망하였고, 암 환자 사망 비율이 26.3%로 사망 원인 1위로 조사되었으며 뒤를 이어 뇌혈관 질환, 심장질환 등이 사망의 주요 원인으로 알려져 있다[3]. 특히 위암(胃癌)은 우리나라에서 발생하는 전체 암의 21.3%를 차지해 발생빈도 1위로 보고되고 있다[16]. 암의 발생은 유전적, 지리적 요인, 면역학적 인자, 연령 등의 내적인자와 물리·화학적 발암인자, 바이러스성 발암인자 등의 외적인자로 나뉘볼 수 있다

*Corresponding author

Tel : +82-53-580-5538, Fax : +82-53-580-5538

E-mail : insoon@kmu.ac.kr

[18]. 이러한 원인으로 발생한 암은 최선의 치료를 하더라도 50%이상의 암환자는 결국 사망에 이르게 되는 심각한 질병이다. 이로 인해 전세계적으로 암의 예방 및 치료를 위해 많은 연구가 진행되고 있다[15,23].

복분자는 복분자 딸기의 열매를 약재로 이르는 말로, 복분자 딸기(*Rubus coreanus* Miquel)는 장미과의 낙엽 관목이며, 우리나라 남부지역이 주 생산지로, 높이는 3미터 정도이며 땅에 닿은 줄기에서 뿌리가 내리며, 잎은 어긋나고 깃모양 겹잎으로 이루어져 있고, 열매는 7~8월에 붉은빛이 도는 검은색으로 익어 수확된다. 복분자는 식용으로 이용되고 있을 뿐만 아니라, 예로부터 한방과 민간에서 맹안, 태생, 지사, 음위, 강장, 그리고 양모 등에 약재로 이용하고 있다[14]. 복분자에 함유된 기능성 물질에 관한 연구로는, 줄기에 (-)-epicatechin, (+)-catechin, proanthocyanidin[19], 잎에 flavonoid 화합물이 존재하고 있음이 보고[17,11] 된 바 있다. 복분자와 같은 이러한 생약재들은 우리나라를 비롯한 동양권에서 오랜 기간 질병치료와 예방목적으로 사용되어왔으며, 생약재의 2차 대사산물이 생체에 대한 산화적 장해를 방어하고 노화를 억제하는 효과 등 여러 생리활성을 나타내면서 천연 자원에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[1].

따라서, 본 연구에서는 복분자를 이용하여 methanol 추출물 및 분획물을 제조한 다음 항산화효과를 검색해 보고 위암 세포주에 대한 생육저해 효과를 MTT로 확인하고 comet assay를 통하여 복분자의 위암세포에 대한 유전적 손상유도 효과를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 및 제조

본 실험에 사용한 복분자는 대구광역시 약령시장에서 건조상태인 것을 구입하여 건조된 시료 100 g을 10배 용량의 80% methanol과 혼합하여 24시간 동안 정치 추출하고, 이를 3회 반복 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 3, England)로 여과한 다음 rotary evaporator (Buchi R3000, Japan)로 농축한 후 동결건조하여 methanol 추출물로 사용하였다. 복분자 methanol 추출물은 20배(w/v)의 증류수를 가하여 현탁시킨 후 동량의 ethylacetate를 가하여 진탕하고 방치한 다음 분획하고 농축하여 ethylacetate fr.을 얻었고, 수용성 층은 다시 n-butanol을 첨가하여 순차 분획한 후 농축하여 butanol fr.을 얻었다. 남은 수용성 층은 농축하여 water fr.을 제조하였다. 위 시료들은 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 분석방법으로 널리 사용되고 있는 Folin Denis법을 응용하여 측정하였다. 즉, 각 methanol 추출물 시료 1 mg을 증류수 1 ml에 녹이고 10배 희석한 희석액

2 ml에 2배로 희석한 Folin 시약 2 ml을 첨가하고 잘 혼합한 후 3분간 방치한 후 2 ml의 10% Na₂CO₃를 서서히 가하였다. 이 혼합액을 1시간동안 방치한 후 UV/visible spectrophotometer (UVIKON 922, Kontron, Italy)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. Tannic acid를 이용한 표준곡선은 tannic acid의 최종 농도가 5, 25, 50 µg/ml이 되도록 하여 위와 같은 방법으로 700 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등의 방법[8]에 의해 측정하였다. 각 시료 100 µl를 80% ethanol 900 µl에 희석한 후 100 µl를 취하여 10% aluminum nitrate와 1 µM potassium acetate를 함유하는 80% ethanol 4.3 ml에 혼합하여 실온에서 40분 방치한 뒤 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

DPPH free radical의 소거활성

각 시료의 DPPH 라디칼에 대한 소거활성은 Blois의 방법[13]에 따라 측정하였다. 각 시료를 99% methanol에 녹인 후, 800 µl를 취하여 methanol에 녹인 0.15 mM의 DPPH용액 200 µl와 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후에 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는 데 필요한 시료의 농도인 RC₅₀값으로 나타내었다.

세포주 배양

본 실험에 사용한 human gastric carcinoma cell인 AGS와 KatoIII는 세포주 은행에서 구입하여 사용하였으며, RPMI 1640 (Gibco BRL, USA)배지에 10% FBS (Gibco)와 1% antibiotics (Gibco)를 첨가하여 37°C의 5% CO₂ incubator에서 2~3일 마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

세포독성 측정

복분자 methanol추출물 및 분획물의 세포독성 효과를 측정하기 위하여 MTT assay를 실시하였다. 각 세포주를 1×10⁴ cells/well로 맞추고 96 well에 각각 100 µl씩 첨가하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후, 시료를 암세포에 처리하였다. 24시간 동안 배양하여 각 well에 5 mg/ml의 MTT solution을 10 µl씩 첨가하여 다시 1시간 동안 배양한 후, 배지를 제거하고 100 µl DMSO로 well에 생성된 formazan을 녹여 ELISA reader (Spectra MAX 340 pc, Molecular Device, USA)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 값은 대조구 세포수를 100%로 하였을 때의

상대적인 세포성장 억제율로 나타내었다.

위암세포 DNA 손상 측정

시료 처리의 농도범위는 MTT assay로 IC₅₀을 설정하여 cell이 배양되어 있는 24 well에 10% DMSO 포함한 배지로 시료를 희석하여 처리하였고, 대조군은 10% DMSO를 같은 조건으로 처리하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 1, 2, 4, 8 hr 동안 반응시켰다. 각 반응시간이 지난 후 well을 PBS로 두 번 세척 한 다음, 0.25% trypsin-EDTA 100 µl를 처리하여 cell을 수집한 후 500 µl PBS에 현탁시켜 micro-centrifuge tube에 옮겨 원심 분리하였다. 두 번의 원심세척 후 세포의 DNA 손상을 측정 하기 위해 Bojana 등[10]의 방법을 참고로 하여 comet assay를 실시하였다. 1.2% Normal melting point agarose (NMPA)가 precoating된 fully frosted slide 위에 현탁된 cell과 1% Low melting point agarose (LMPA)를 끌고루 섞은 후 100 µl loading하여 cover glass로 덮고 4°C 냉장고에 넣어 굳힌 후 cover glass를 벗기고 그 위에 다시 1% LMPA용액 100 µl를 올려 굳힌 뒤, lysing solution (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, 1% Triton X-100, 10% DMSO)에 slide를 담가 저온, 압실에서 1시간 동안 침지시켜 lysis시켰다. 그 후 slide를 electrophoresis tank에 배열하고 4°C buffer (10 N NaOH, 200 mM EDTA)를 채워 25분 동안 unwinding한 후 25 v/300 mA의 전압을 걸어 30분간 전기영동을 실시하고 전기영동이 끝난 slide는 neutralization buffer (0.4 M Tris, pH 7.5)로 15분씩 세척하였다.

Image analysis

Comet image 분석을 위해 ethidium bromide (20 µg/ml, Sigma Co.)로 nucleotide를 염색하여 형광현미경(Leica DMLB, Germany)에서 관찰하고 CCD camera를 통해 보내진 각각의 세포핵 image를 comet image analyzing program인 Komet 5 (Kinetic Imaging Co. UK)로 컴퓨터 상에서 분석하였다. DNA damage 정도는 tail DNA (%)로 측정하여 나타냈으며, 각 처리구당 2개의 slide를 제작하여 그 중에서 100개의 세포를 관찰하여 측정하였고 각 처리구는 최소 2회 반복 실험하였다.

통계처리

실험결과와 통계분석은 SAS program을 이용한 분산분석법을 실시하여 Duncan's multiple range test에 의해 시료간의 유의적 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사

산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며 플라보노이드와 탄닌이 주성분이다. 이들은 phenolic hydroxyl (OH)기를 갖기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합하며, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다. 축합형 탄닌은 녹차를 비롯한 차잎의 주된 폴리페놀 성분으로 알려져 있으며 충치 예방, 고혈압 억제, 항에이즈, 항암, 항산화, 미백효과 등이 보고되어 있다[22]. 본 실험에서는 복분자의 methanol 추출물 및 분획물에 존재하는 총 폴리페놀 함량은 tannic acid를 기준물질로, 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 기준물질로 하여 측정하였다. 결과, 복분자의 methanol 추출물은 360.93 µg/mg으로 나타났으며, 분획물은 butanol, ethyl acetate, water fr. 순으로 각각 546.25 µg/mg, 465.51 µg/mg, 355.43 µg/mg의 높은 폴리페놀 화합물을 함유하고 있었다(Table 1). 플라보노이드의 함량(Table 2)은 methanol ext.에서 80.84 µg/mg으로 나타났으며, ethylacetate fr.은 141.78 µg/mg으로 분획물 중에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 그리고 butanol fr.과 water fr.은 각각 105.42 µg/mg와 102.46 µg/mg의 플라보노이드를 함유하고 있었다.

DPPH free radical의 소거활성

DPPH는 화학적으로 안정화된 free radical을 가지고 있는

Table 1. Content of total polyphenols in fraction from methanol extract of *Rubus coreanus* Miquel (Unit: mg/g)

<i>Rubus coreanus</i> Miquel	Total polyphenols ¹⁾
Methanol extract	360.93±9.39 ^{2)c3)}
Ethylacetate fraction	465.51±11.12 ^b
Butanol fraction	546.25±5.82 ^a
Water fraction	355.43±18.69 ^c

¹⁾Milligrams of total polyphenol content/g of plants based on tannic acid as standard.

²⁾Each value is mean ± S.D.(n≥3)

³⁾Values not sharing the same letter are significantly different from one another(p<0.05)by Duncan's multiple range test.

Table 2. Content of total flavonoids in fraction from methanol extract of *Rubus coreanus* Miquel (Unit: mg/g)

<i>Rubus coreanus</i> Miquel	Total flavonoids ¹⁾
Methanol extract	80.84±3.43 ^{2)c3)}
Ethylacetate fraction	141.73±4.10 ^d
Butanol fraction	105.42±2.92 ^b
Water fraction	102.46±4.14 ^b

¹⁾Milligrams of total flavonoid content/g of plants based on quercetin as standard.

²⁾Each value is mean ± S.D. (n ≥ 3)

³⁾Values not sharing the same letter are significantly different from one another (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 3. Scavenging effects of butylated hydroxyanisole (BHA) and methanol extracts from *Rubus coreanus* Miquel on α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl radicals (DPPH·)

<i>Rubus coreanus</i> Miquel	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Scavenging effect (%)	RC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Methanol extract	1	23.23±0.35	2.65±0.06 ^{2) b3)}
	10	94.84±0.31	
Ethylacetate fraction	1	33.60±6.18	2.20±0.21 ^c
	10	94.28±0.30	
Butanol fraction	1	38.48±6.56	1.67±0.26 ^d
	10	94.22±0.18	
Water fraction	1	18.83±1.55	2.99±0.03 ^a
	10	93.44±0.92	
BHA	1	9.23±0.72	3.00±0.03 ^a
	10	90.75±0.70	

¹⁾Concentration required for 50% reduction of DPPH· at 30 min after starting the reaction.

²⁾Each value is mean ± S.D. (n ≥ 3)

³⁾Values not sharing the same letter are significantly different from one another (p < 0.05) by Duncan's multiple range test.

수용성 물질로 항산화활성이 있는 물질과 만나면 전자를 내어주면서 radical이 소멸되고 색깔이 변한다. 이것은 다양한 천연 소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다[6]. 복분자 methanol 추출물 및 분획물과 합성 항산화제인 BHA에 의한 DPPH radical의 소거활성을 측정하여 비교한 결과(Table 3), methanol ext.에서는 RC₅₀값이 2.65 $\mu\text{g/ml}$ 으로 나타났으며, butanol fr.에서는 1.67 $\mu\text{g/ml}$ 으로 분획물 중 가장 높게 나타났으며, ethylacetate fr., water fr. 순으로 각각 RC₅₀값이 2.20 $\mu\text{g/ml}$, 2.99 $\mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. 특히 butanol fr.에서 합성 항산화제인 BHA의 RC₅₀값 3.0 $\mu\text{g/ml}$ 보다 약 두배 정도 더 좋은 소거능을 보였다. 항산화 성분 함량과 free radical 소거활성과의 관계를 살펴보면 폴리페놀 함량이 높은 시료일수록 더 좋은 free radical 소거능을 보였으나, 플라보노이드 함량과는 상관관계가 없었다.

복분자의 위암세포에 대한 성장 저해효과

복분자 methanol 추출물과 분획물들이 인간유래 위암세포주의 성장에 미치는 영향을 MTT assay로 살펴보았다. MTT는 살아있는 세포에서 물에 녹지 않는 formazan crystal로 환원되는데 이 crystal을 나중에 DMSO로 녹여 생성된 crystal의 양을 흡광도로 측정한 것으로 암 기초 연구에서 널리 사용되는 방법 중의 하나이다. 먼저 인간 유래의 위암세포주 중 AGS에 대하여 시료를 각각 50~250 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 24시간 처리한 결과, Fig. 1과 같이 시료 처리 농도에 따라 더 큰 위암 세포주 저해율을 보였다. 50 $\mu\text{g/ml}$ 에서 butanol fr.이 48.5%로 가장 높은 저해율을 보였으며, ethylacetate fr., water fr. 순으로 각각 27.3%, 2.1%의 저해율을 나타내었다.

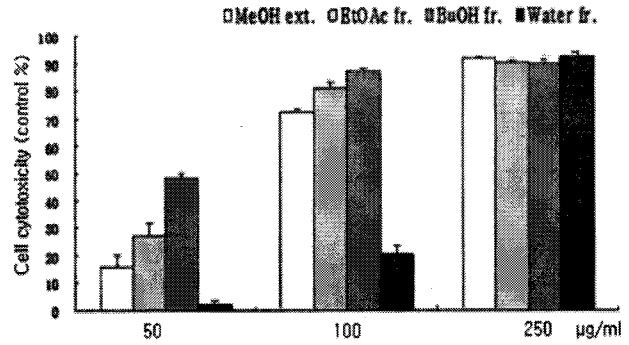


Fig. 1. The effects of *Rubus coreanus* Miquel methanol extracts and fractions on growth inhibition of AGS cells. Each bar represents means ± SD.

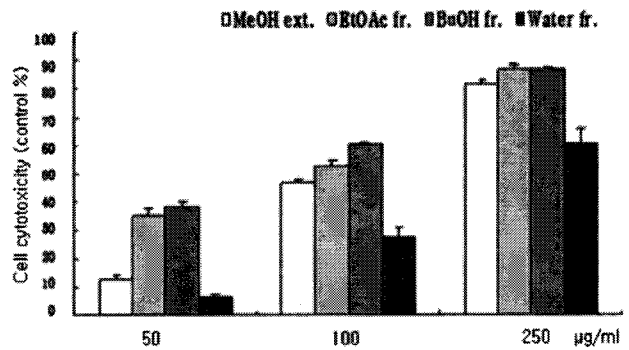


Fig. 2. The effects of *Rubus coreanus* Miquel methanol extracts and fractions on growth inhibition of KatoIII cells. Each bar represents means ± SD.

특히 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 water fr.을 제외하고 72%~87%의 높은 저해율을 보였다. 아울러, 인간유래 위암세포주 중 KatoIII에 대한 성장 저해효과를 확인한 결과, Fig. 2과 같이 나타났다. KatoIII 역시 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 AGS와 같은 순의 저해율을 보였으며, butanol fr.의 저해율은 38.7%로 가장 높게 나타났다. 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도 역시 같은 순의 저해율을 나타내었고, water fr.을 제외하고 46%~60%의 저해율을 나타내었다. AGS와 KatoIII에 대한 복분자의 methanol 추출물 및 분획물의 저해능은 유사한 경향 순으로 나타났지만 약간의 저해율 차이를 보였는데 이는 cell line에 따른 시료 효과의 차이가 다소 다른 것으로 생각된다.

Comet assay에 의한 복분자의 위암세포 DNA손상 유발

복분자 methanol 추출물과 각각의 분획물에 대하여 IC₅₀ 값을 결정하여 세포에 처리한 후 시간별로 comet assay를 실시한 결과 image는 Fig. 3과 같으며, 분석 결과는 Fig. 4와 Fig. 5와 같다. 두 종류 위암 세포주에 대해 methanol 추출물과 각각의 분획물 모두 control에 비해 DNA 손상을 유도하는 것으로 나타났으며, 또한 시간에 비례하여 우수한 DNA 손상효과를 보였다. AGS에서는 butanol fr.이 시료 처리 1시간 이내에 50% 이상의 DNA 손상을 유발시키며 가장 좋은

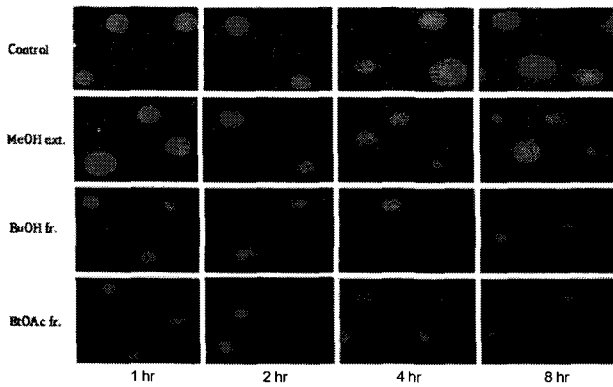


Fig. 3. Changes of comet images by time course of sample treatment to KatoIII cells. Cells were exposed to IC₅₀ of these fractions for 1, 2, 4, 8 hr and DNA damage was assessed by the comet assay.

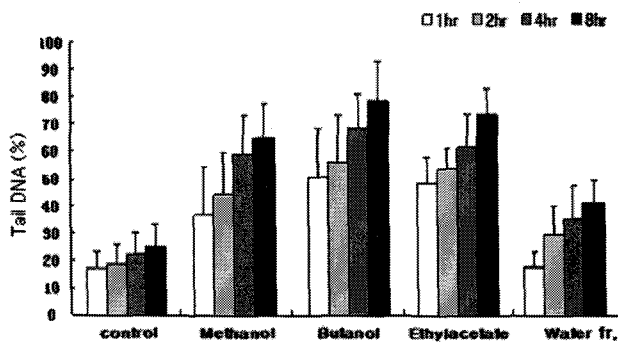


Fig. 4. DNA damage induced by *Rubus coreanus* Miquel in AGS cells. Cells were exposed to IC₅₀ of these fractions for 1, 2, 4, 8 hr and DNA damage was assessed by the comet assay. Each bar represents means \pm SD.

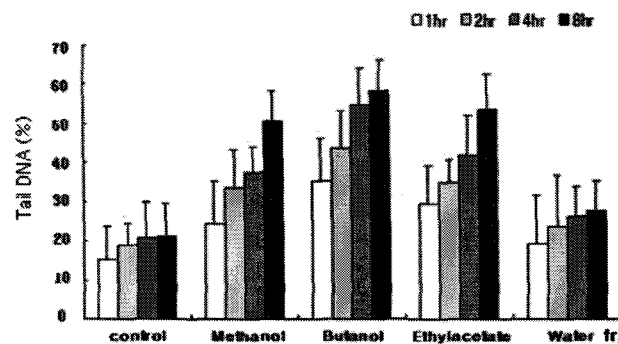


Fig. 5. DNA damage induced by *Rubus coreanus* Miquel in KatoIII cells. Cells were exposed to IC₅₀ of these fractions for 1, 2, 4, 8 hr and DNA damage was assessed by the comet assay. Each bar represents means \pm SD.

효과를 나타내었고, water fr.층을 제외한 ethylacetate fr.과 methanol 추출물은 시료 처리 8시간 이내에 64% 이상의 DNA 손상을 유발시켰다(Fig. 4). KatoIII에서 역시 AGS와 유사한 경향을 나타내었다. 시료 처리 4시간 이내에서는 water fr.을 제외하고 56~65%의 DNA 손상을 나타내었으며,

butanol fr., ethylacetate fr., methanol ext. 순으로 손상효과를 보였다(Fig. 5). 두 종류 위암세포주의 DNA 손상을 비교해 보았을때, 동일한 처리시간에도 불구하고 특히 AGS 세포주에서 더 좋은 효과를 보였는데 이는 MTT에 의한 세포 성장저해효과의 결과와 유사하였다. 이상의 결과에서 복분자 methanol 추출물 및 분획물은 위암세포의 유전적 손상 유도 효과를 가지는 것으로 확인되었다.

요 약

본 연구에서는 다양한 기능성을 가지는 복분자를 80% methanol로 추출한 후 분획물들을 제조하여 항산화 효과 및 인간 유래 위암세포인 AGS와 KatoIII을 이용하여 성장 저해 효과와 DNA손상을 측정하였다. 항산화 효과를 측정해 보기 위하여 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량, DPPH free radical의 소거활성을 측정하였는데, 먼저 폴리페놀의 경우 butanol fr., ethylacetate fr., water fr.순으로 나타났고 특히 butanol fr.의 경우 546.25 μ g/mg의 매우 높은 폴리페놀 함량을 확인 할 수 있었다. 플라보노이드의 함량 결과 ethylacetate fr., butanol fr., water fr.순으로 나타났으며 ethylacetate fr.의 경우 141.78 μ g/mg의 높은 플라보노이드 함량을 확인할 수 있었다. DPPH free radical의 소거활성에서는 폴리페놀 함량의 순서와 같은 효과를 보였으며, 합성 항산화제인 BHA의 RC₅₀값 3 μ g/ml보다 water fr.을 제외하고 더 좋은 소거능을 확인 할 수 있었다. 인간 유래 위암세포주의 성장 저해 효과를 살펴본 결과 AGS와 KatoIII 세포주 모두 butanol fr.에서 가장 좋은 저해능을 나타내었고, butanol fr., ethylacetate fr., water fr. 순서로 저해효과를 나타내었다. DNA손상을 측정한 결과 역시 이와 같은 순으로 나타났으며, butanol fr.에서 1시간 이내에 약 50%정도의 손상유도 효과를 보였다. 이상의 결과에서 복분자 methanol 추출물과 각각의 분획물은 항산화 효과 및 위암 세포주에 대한 성장 저해 활성 및 높은 DNA 손상 유도 효과를 갖고 있음을 알 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 2006학년도 계명대학교 대학원 학생학술연구 장학금과 산업자원부 지정 계명대학교 전통미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Andresen, T. L., S. S. Jensen, R. Madsen and K. Jorgensen. 2005. Synthesis and biological activity of anticancer ether lipids that are specifically released by phos-

- pholipase A2 in tumor tissue. *J. Med. Chem.* **48**, 7305-7314.
2. Blois, M. S. 1977. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *J. Agric. Food Chem.* **25**, 103-107.
 3. Bojana, Z., S. Bojan and F. Metka. 2003. Microcystin-LR induces oxidative DNA damage in human hepatoma cell line HepG2. *Toxicol.* **41**, 41-48.
 4. Branen, A. L. 1972. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **50**, 59-62.
 5. Cha, Y. J. and Y. S. Cho. 2001. Antioxidative activity of extracts from fruit of *Cudrania tricuspidata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 547-551.
 6. Gutteridge, J. M. C. and B. Halliwell. 1994. Antioxidants in nutrition, health, and disease. 3rd ed. pp. 1-62, Oxford university press. New York.
 7. Ji, S. T., J. H. Park, C. K. Hyun and H. K. Shin. 2000. The antigenotoxic effects of Korean native fermented food, baechu kimchi using comet assay. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 316-321.
 8. Joo, H. Z., H. S. Lee and T. S. Lee. 1992. A clinical study of 5-year survival rate of stomach cancer according to postoperative anticancer chemotherapy. *J. Korean Cancer Assoc.* **24**, 140-148.
 9. Kasuga, A., Y. Aoyagi and T. Sugahara. 1988. Antioxidants activities of edible plants. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **35**, 852-856.
 10. Kim, M. S., G. C. Pang and M. W. Lee. 1997. Flavonoids from the leaves of *Rubus coreanum*. *Yakhak Hoeji.* **41**, 1-6.
 11. Kuramoto, T. 1992. Development and application of food materials from plant extract such as SOD. *Upto data Food Processing* **27**, 22-23.
 12. Lee, M. W. 1995. Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreanum*. *Yakhak Hoeji* **39**, 200-204.
 13. Lee, S. O., H. J. Lee, M. H. Yu, H. G. Im and I. S. Lee. 2005. Total Polyphenol Contents and Antioxidant Activities of Methanol Extracts from Vegetables produced in Ullung Island. *Korean J. Food sci. Technol.* **37**, 233-240.
 14. Lee, Y. A. and M. W. Lee. 1995. Tannins from *Rubus coreanum*. *Korean J. Pharmacogn.* **26**, 27-30.
 15. Nieva Moreno, M. I., A. R. Sampietro and M. A. Vattuone. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several region of Arentina. *J. Ethnopharmacol.* **71**, 109-114.
 16. Pang, G. C., M. S. Kim and M. W. Lee. 1996. Hydrolyzable tannins from the fruits of *Rubus coreanum*. *Korean J. Pharmacogn.* **27**, 366-370.
 17. Park, K. J., E. H. Kim, Y. A. Eun, B. J. Kang and H. J. Sung. 1997. Cytotoxic effect of Korean traditional prescriptions on the human gastric cancer cell lines. *Kor. J. Pharmacogn.* **28**, 233-238.
 18. Sadaki, O. 1994. The development of functional foods and materials. *Bioindustry* **13**, 44-50.
 19. Seol, K. L., S. Y. Choi and J. I. Lee. 2002. A study on the use, understanding and satisfaction with alternative therapy for hospitalized cancer patients. *J. Korean Public Health Assoc.* **28**, 198-211.
 20. Xu, F., S. H. Zhang, R. G. Shao and Y. S. Zhen. 2005. Anticancer activity of sodium caffeate and its mechanism. *Acta. Pharmacol Sin.* **26**, 1248-1252.
 21. Yoo, K. Y. 2002. Epidemiologic evidences on association of Kimchi intake and cancer occurrence in Korea. *J. Kor. Ass. Cancer Prev.* **7**, 215-220.
 22. Yoshizawa, S., T. Horiuchi, T. Yoshida and T. Okuda. 1987. Antitumor promoting activity of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of tannin in green tea. *Phytotner. Res.* **1**, 44-47.
 23. Zhu, C. Y. and S. Loft. 2001. Effects of brussel sprouts extracts on hydrogen peroxide-induced DNA strand breaks in human lymphocytes. *Food Chemical Toxicol.* **39**, 1191-1197.