

## 국내산 나무딸기류 과일의 항산화 및 암세포 항증식 활성

정하나 · 이희재 · 조현노 · 황금택<sup>†</sup>  
서울대학교 식품영양학과 · 생활과학연구소

### Antioxidant and Anti-Proliferative Activities of *Rubus* Fruits in Korea

Hana Jung, Hee Jae Lee, Hyunnho Cho, and Keum Taek Hwang<sup>†</sup>

Dept. of Food and Nutrition and Research Institute of Human Ecology,  
Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

#### Abstract

This study was conducted to determine the polyphenols, flavonoids and antioxidant activity (FRAP) of the extracts (crushed by hand or a homogenizer) of *Rubus* fruits (blackberry, Korean raspberry, black raspberry, boysenberry and golden raspberry) produced in Korea. In addition, their nitric oxide (NO) scavenging activity in RAW 264.7 cells and anti-proliferative activity in HT-29 and KATO-3 cells were investigated. Polyphenol and flavonoid contents in the *Rubus* fruits ranged from 0.6 to 8.9 and from 0.1 to 7.9 mg/g fresh fruit, respectively. Black raspberry had the highest polyphenol and flavonoid contents among the *Rubus* fruits. The homogenized extracts of blackberry, Korean raspberry and golden raspberry fruits showed significantly higher polyphenol and FRAP values than the hand-crushed extracts. FRAP values of the *Rubus* fruit extracts were significantly correlated with their polyphenol (R=0.995) and flavonoid (R=0.967) contents. The *Rubus* fruit extracts suppressed the NO secretions in LPS-treated RAW264.7 cells. There were no significant differences between extracts obtained by crushing by hand and those obtained using a homogenizer. Proliferation rates of HT-29 and KATO-3 cancer cells treated with the *Rubus* fruit extracts at 0.1, 0.25 and 0.5 mg/mL were reduced by 3~32% and 0~57%, respectively. The homogenized extracts of blackberry and Korean raspberry fruits had significantly higher anti-proliferation activity against HT-29 cancer cells than the hand-crushed extracts. However, extraction method did not show any significant difference on proliferation of KATO-3 cancer cells. The NO scavenging activity of the *Rubus* fruit extracts were significantly correlated with the anti-proliferation activities of the HT-29 (R=0.602) and KATO-3 cells (R=0.498).

**Key words:** *Rubus*, raspberry, polyphenol, antioxidant, anti-proliferation

#### 서론

전 세계적으로 생리활성을 가진 식물성 천연물질에 대한 관심이 증가하고 있으며, 그중에서도 과일과 채소에 많이 함유되어 있는 polyphenol과 flavonoid와 같은 물질에 대한 연구가 활발하다. 이 중에서 적색, 자색, 청색을 나타내는 수용성 색소인 anthocyanin은 20여종에 이르는 식물에 분포하고 있으며, 나무딸기류에 많이 함유되어 있다(1-3). 나무딸기의 과일에는 anthocyanin류 이외에도 ellagitannin류와 flavonoid류 및 phenolic acid류와 같은 polyphenol류가 다양하게 다량 함유되어 있으며, 각종 약리 작용을 하는 tri-terpene류가 존재하는 것으로 알려져 있다(4,5). 또한 나무딸기류는 과일 색이 진할수록 천연색소의 함량이 높아 항산화 효과가 뛰어나다고 보고되었다(6,7).

우리나라의 토종 복분자(Korean raspberry, *Rubus coreanus* Miquel)는 장미과(*Rosaceae*) 나무딸기속(*Rubus*)에

속하며, 근래에 나무딸기류의 생리활성에 대한 관심이 높아지면서 외국에서 blackberry(*Rubus fruticosus*), black raspberry(*Rubus occidentalis*), boysenberry(*Rubus ursinus* × *idaeus*), raspberry(*Rubus idaeus*) 등으로 불리는 다양한 종류가 유입되었다. 이 중에서도 현재 우리나라에서 널리 보급하여 재배하는 품종은 black raspberry로서 과일 수확량이 많고 색깔이 매우 진하여 다른 품종에 비하여 anthocyanin을 비롯한 polyphenol의 함량이 매우 높고, 항산화능 또한 뛰어난 것으로 알려져 있다(1,8). 최근에는 나무딸기류 과일과 그 추출물을 술을 비롯한 다양한 가공식품의 재료로 사용하고 있으며, 생리활성 물질을 효율적으로 추출하는 가공방법에 대한 연구들도 이루어졌다(7,9,10).

나무딸기류의 생리활성 물질에 대한 관심을 바탕으로 이어진 연구들에서 나무딸기류 과일의 추출물이 항산화효과와 폐암, 간암, 결장암, 전립선암, 피부암 등의 세포의 증식 억제 효과, 순환기 장애 억제 효과, 염증 억제 효과, 통증

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: keum@snu.ac.kr  
Phone: 82-2-880-2531, Fax: 82-2-884-0305

완화 효과 등이 있는 것으로 보고되었다(1,11,12). Liu 등(13)은 raspberry 추출액이 인간 간암 세포의 증식을 억제하는 효과가 있음을 밝혔으며, Seeram 등(5)은 blackberry, black raspberry, red raspberry를 비롯한 각종 berry의 추출액이 인간 구강암, 유방암, 결장암, 전립선암 등의 증식을 억제하는 효과가 있음을 밝혔다.

그러나 국내산 나무딸기류에 대한 선행 연구들은 과일이나 씨앗의 일반성분과 화학적 특성만을 분석하였으며, 항산화능과 생리활성에 대해서는 일반적으로 보급되는 소수의 품종에 한정되어 수행되었다(7,9,14). 본 연구에서는 국내에서 재배한 다섯 종류의 나무딸기류 과일의 추출에 있어서 씨앗성분의 혼입이 항산화 성분 및 항산화능에 미치는 영향을 분석하고, *in vitro* 모델을 이용하여 각 추출물의 NO 소거능(RAW264.7)과 암세포(HT-29, KATO-3)의 항증식 활성을 비교 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

전북 고창군에서 2008년 재배한 다섯 종류의 나무딸기류 blackberry, Korean raspberry, black raspberry, boysenberry, golden raspberry를 구입하여 실험에 사용할 때까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하였다. 본 실험에 사용한 세포주는 대식세포 RAW264.7, 대장암세포 HT-29, 위암세포 KATO-3으로서 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 분양 받았다.

### 시료 제조

다섯 종류의 나무딸기류 과일을 각각 20 g씩 취하여 손으로 으깨어 씨앗을 제거하거나 녹즙기(Angelia, Angel Juicer Co., Ltd., Busan, Korea)를 사용하여 씨앗까지 갈아 100 mL의 60%(v/v) ethanol(Samchun Pure Chemicals, Pyeongtaek, Korea)에서 1시간 동안 상온 추출하였다. 각 ethanol 추출액은 Whatman No. 1 여과지(Whatman International Ltd., Maidstone, UK)로 여과한 후, 감압농축기(Eyela Co., Tokyo, Japan)를 이용하여  $40^{\circ}\text{C}$ 에서 감압한 상태로 농축하였다. 농축한 ethanol 추출물은 동결건조기(Ilshin Lab Co., Seoul, Korea)를 이용하여 동결건조하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

### 총 polyphenol 함량

나무딸기류 과일의 총 polyphenol 함량은 Singleton과 Noble이 개발한 방법(15)을 사용하여 측정하였다. 증류수로 희석한 동결건조 시료(10 mg/mL) 20  $\mu\text{L}$ 에 증류수 1.2 mL와 2 N Folin-Ciocalteu 시약(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 100  $\mu\text{L}$  넣고 잘 섞어 상온에서 반응시켰다. 5분 후에 20%의  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (Samchun Pure Chemicals) 용액 300  $\mu\text{L}$ 와 증류수 380  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 상온에서 2시간 동안 반응시킨 후 분광광도계(Beckman DU-530, Beckman Coul-

ter Inc., Fullerton, CA, USA)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 polyphenol 함량은 gallic acid(Sigma Chemical Co.) 표준곡선을 이용하여 산출하였다.

### 총 flavonoid 함량

나무딸기류 과일의 총 flavonoid 함량은 Zhishen 등이 개발한 방법(16)을 사용하여 측정하였다. 증류수로 희석한 동결건조 시료(5 mg/mL) 500  $\mu\text{L}$ 에 5%  $\text{NaNO}_3$ (Samchun Pure Chemicals) 용액을 75  $\mu\text{L}$  넣고 잘 섞어 상온에서 5분간 반응시켰다. 10%  $\text{AlCl}_3$ (Samchun Pure Chemicals) 용액 150  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 상온에서 5분 동안 반응시킨 후, 1 M NaOH(Samchun Pure Chemicals) 500  $\mu\text{L}$ 를 첨가하고 분광광도계를 사용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 flavonoid 함량은 catechin(Sigma Chemical Co.) 표준곡선을 이용하여 산출하였다.

### Ferric reducing antioxidant power

나무딸기류 과일의 항산화능은 Benzie와 Strain이 개발한 ferric reducing antioxidant power(FRAP) 방법(17)을 사용하여 측정하였다.  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 15분 동안 대운 FRAP 시약[300 mM sodium acetate buffer(pH 3.6), 10 mM TPTZ in 40 mM HCl and 20 mM ferric chloride, Sigma Chemical Co.] 270  $\mu\text{L}$ 에 증류수로 희석한 동결건조 시료(10 mg/mL) 30  $\mu\text{L}$ 를 넣고 잘 섞어  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 반응시켰다. 반응시킨 용액은 분광광도계를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 항산화능은 hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid(trolox, Sigma Chemical Co.) 표준곡선을 이용하여 산출하였다.

### 세포배양

본 실험에 사용한 RAW264.7 세포는 DMEM(Gibco BRL, Grand Island, NY, USA) 배지, HT-29와 KATO-3 세포는 RPMI(Gibco BRL) 배지를 사용하였으며, 모두 5% fetal bovine serum(Gibco BRL)과 1% penicillin/streptomycin(Gibco BRL)을 첨가하여  $37^{\circ}\text{C}$ 의  $\text{CO}_2$  인큐베이터에서 배양하였다. 세포가 80% 정도 증식하면 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4, Sigma Chemical Co.)으로 씻어낸 후, RAW264.7 세포는 scraper를 사용하여 계대배양하고 HT-29 세포는 trypsin-EDTA(Gibco BRL)로 처리하여 계대배양 하였다. KATO-3 세포는 반부착성의 특성을 가지므로 세포가 80% 정도 증식하면 떠있는 세포는 배지를 원심분리(1,000 rpm, 3 min)하여 모으고, 부착된 세포는 trypsin-EDTA로 처리하여 모아 함께 계대배양 하였다.

### MTT assay

본 실험에 사용한 MTT 실험은 Mosmann이 개발한 방법(18)을 이용하였다. 배양한 RAW264.7, HT-29, KATO-3 세포를 96 well plate에 각각  $1 \times 10^5$  cells/well,  $5 \times 10^4$  cells/well,  $5 \times 10^4$  cells/well로 분주하고 24시간 동안 배양한 후에

각 well의 배양액을 suction하고, FBS를 포함하지 않은 DMEM-F12(Gibco BRL) 배지에 녹인 추출물 시료를 0.1~20 mg/mL 농도로 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 시료가 포함된 배지를 제거하고 tetrazolium salt 3-(4,5-dimethylthiazoly-2)-2,5-diphenyl-tetrazilium bromide (MTT, Sigma Chemical Co.) 용액 10 µL와 DMEM-F12 배지 100 µL를 넣어 2시간 동안 배양한 후, 기존 배지를 제거하고 각 well에 dimethyl sulfoxide(DMSO, Samchun Chemical Co.)를 100 µL씩 넣고 20분간 상온에서 반응시켰다. 반응시킨 96 well plate를 충분히 교반하고, ELISA microplate reader(Model 680, Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 독성은 대조군 세포를 100%로 하였을 때와 비교하여 상대적인 세포성장 억제율로 나타내었다.

NO assay

Nitric oxide(NO)의 농도는 Griess 시약(0.5% sulfanilamide, 2.5% phosphoric acid, 0.05% N-1-naphthylethylenediamine, Sigma Chemical Co.)을 이용하여 배양액 내의 nitrite 농도를 측정하는 Izumi 등의 방법(19)으로 분석하였다. RAW264.7 세포를 96 well plate에  $2 \times 10^5$  cells/well이 되도록 분주하고 24시간 동안 배양한 후에 각 well의 배양액을 suction하고, FBS를 포함하지 않은 DMEM-F12(Gibco BRL) 배지에 녹인 추출물 시료를 0.1~0.5 mg/mL 농도로 처리하고 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 시료가 포함된 배지에 lipopolysaccharide(LPS, Sigma Chemical Co.)를 100 ng/mL 농도로 처리한 후, 다시 20시간 동안 배양하였다. 모든 배양이 완료된 후에 배양액 100 µL와 동량의 Griess 시약을 가하고 20분간 상온에서 반응시킨 후 ELISA microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrite(Sigma Chemical Co.)의 농도별 표준곡선을 이용하여 배양액의 NO 농도를 산출하였다.

통계분석

실험결과의 통계처리는 SPSS program(version 12.0, SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 one-way ANOVA test 및 Duncan's multiple range test를 하였다. 항산화 및 암세포 항증식 지표들의 상관관계는 Pearson 상관분석을 수행하여 상관계수(R) 및 유의확률을 구하였다.

결과 및 고찰

총 polyphenol 및 flavonoid 함량

국내에서 재배하는 나무딸기류 과일추출물의 총 polyphenol 함량은 0.6~8.9 mg/g으로 다양하였다(Fig. 1). 과일을 손으로 으깨거나 녹즙기로 갈아서 추출했을 때 모두 black raspberry 추출물의 polyphenol 함량이 가장 높았으며, 으깨어 추출한 golden raspberry에 가장 적게 함유되어

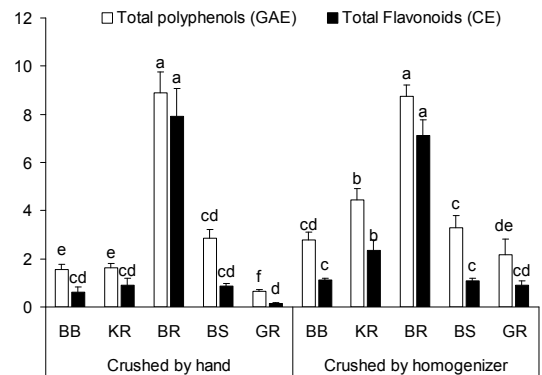


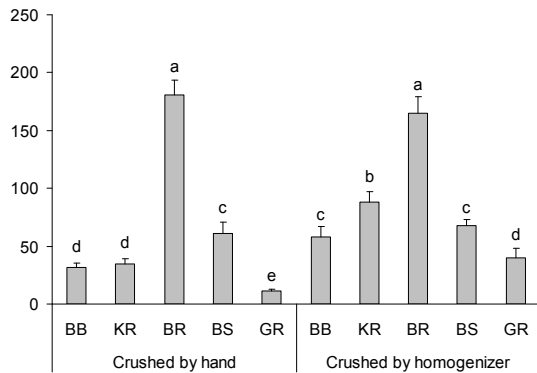
Fig. 1. Total polyphenols and total flavonoids in ethanol extracts of *Rubus* fruits. GAE, gallic acid equivalent; CE, catechin equivalent; BB, blackberry; KR, Korean raspberry; BR, black raspberry; BS, boysenberry; GB, golden raspberry. Based on the wet weight of the fruits. Values are means±standard deviations (n=3). Values with different letters within the same color bar are significantly different (p<0.05; one-way ANOVA and Duncan's multiple range test).

있었다(p<0.05). Blackberry, Korean raspberry, golden raspberry를 갈아서 추출한 것이 으깨서 추출한 것보다 유의적으로 높았으며(p<0.05), black raspberry와 boysenberry에서는 유의적인 차이가 없었다(p>0.05). 이 결과는 black raspberry 과일 과육에 씨앗을 갈아 넣거나 씨앗을 넣지 않고 물과 에탄올로 추출하였을 때 polyphenol 함량에 차이가 없었던 선행연구와 유사하였으나(7,10), 다른 종의 나무딸기류는 씨앗 성분의 혼입이 polyphenol 함량에 주는 영향에 대한 선행연구가 이루어지지 않아 비교할 수 없었다.

나무딸기류 과일추출물의 총 flavonoid 함량은 Fig. 1과 같다. 다섯 종류의 나무딸기류 과일 중에서 black raspberry 추출물에 flavonoid가 가장 많이 함유되어 있었으며, golden raspberry 추출물에 가장 적게 함유되어 있었다. Korean raspberry를 갈아서 추출한 것이 으깨어서 추출한 것보다 유의적으로 flavonoid 함량이 높았다(p<0.05). 이 결과는 black raspberry의 flavonoid 함량이 1.5~2.5 mg/g이라는 Gransch 등(20)의 결과보다는 높았고, Sariburun 등이 보고한 blackberry의 flavonoid 함량인 0.29~0.82 mg/g과는 유사하였다(2). 이러한 결과로 볼 때 나무딸기류 과일추출물의 polyphenol 및 flavonoid 함량은 과일의 종류에 따라 다르며, 씨앗성분의 혼입이 미치는 영향도 나무딸기의 종에 따라 다른 것으로 보인다.

항산화능

나무딸기류 과일추출물의 항산화능을 알아보기 위하여 FRAP 방법을 이용하였고, 잘 알려진 항산화제인 trolox의 표준곡선을 이용하여 구한 시료의 항산화 활성은 Fig. 2와 같다. 과일의 추출방법과 상관없이 black raspberry 추출물의 항산화능이 가장 높았으며, 으깨서 추출한 golden raspberry의 항산화능이 가장 낮았다(p<0.05). 항산화능은 blackberry, Korean raspberry, golden raspberry를 갈아서 추출



**Fig. 2. Antioxidant activities of ethanol extracts of *Rubus* fruits.** FRAP, ferric reducing antioxidant power; BB, blackberry; KR, Korean raspberry; BR, black raspberry; BS, boysenberry; GB, golden raspberry. Based on the wet weight of the fruits. Values are means  $\pm$  standard deviations ( $n=3$ ). Values with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ; one-way ANOVA and Duncan's multiple range test).

한 것이 으개서 추출한 것보다 유의적으로 높았으며( $p<0.05$ ), black raspberry와 boysenberry에서는 차이가 없었다( $p>0.05$ ). 이러한 결과는 총 polyphenol 함량이 blackberry, Korean raspberry, golden raspberry를 으개서 추출할 때보다 갈아서 추출했을 때 유의적으로 높은 결과와 관계가 있는 것으로 판단된다. Ozgen 등(21)은 black raspberry와 black berry를 갈아서 물로 추출했을 때의 FRAP 항산화능이 각각 93.1과 46.0  $\mu\text{M}$  trolox equivalent라고 보고하였으며, 이것은 과일을 갈아서 에탄올로 추출한 본 연구의 결과보다는 낮았다. 또한 black raspberry 과일과 씨앗을 함께 갈아 넣은 과일을 물과 에탄올로 침출하였을 때 항산화능에 차이가 없었던 Jeong 등(7)의 연구는 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

나무딸기류 과일추출물의 총 polyphenol 및 flavonoid 함량과 FRAP의 상관관계를 분석한 결과, 총 polyphenol 함량과 FRAP의 상관관계수는 0.995( $p<0.001$ )이며, 총 flavonoid 함량과 FRAP의 상관관계수는 0.967( $p<0.001$ )이었다. 이는 나무딸기류의 FRAP 항산화능이 polyphenol( $R=0.96$ )과 flavonoid( $R=0.68$ ) 함량과 유의적인 상관관계가 있다는 Du 등(22)의 연구와 유사하다. 나무딸기류 과일추출물의 총 polyphenol 및 flavonoid 함량이 높을수록 유의적으로 항산화능이 증가하며, 총 polyphenol 함량이 총 flavonoid 함량보다 나무딸기류 과일추출물의 항산화능과 높은 상관관계를 가진다는 것을 알 수 있다.

#### 세포 독성 및 NO assay

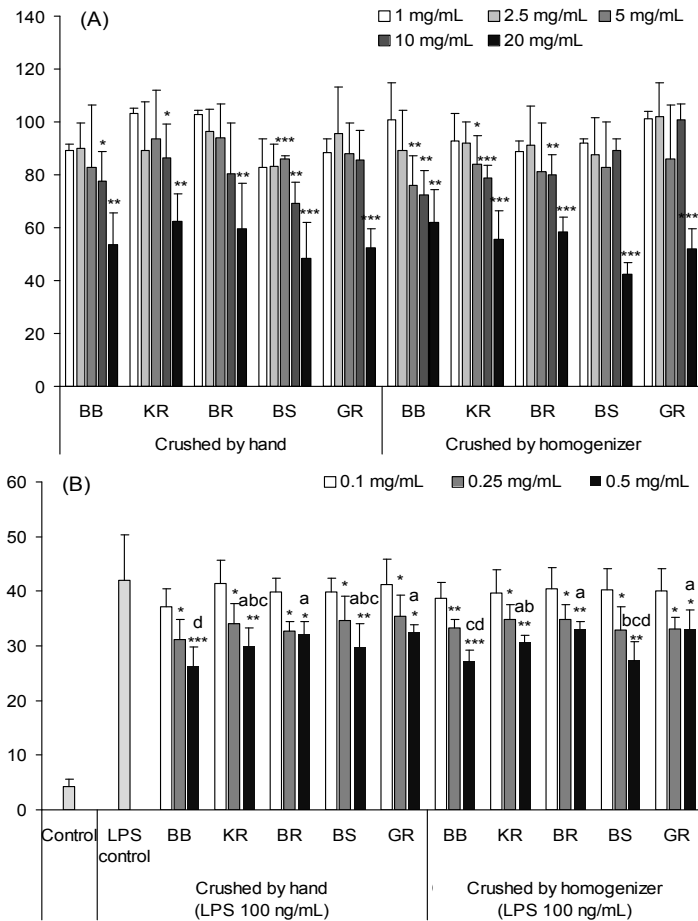
다섯 가지 나무딸기류 과일추출물의 세포독성을 알아보기 위하여 MTT assay를 수행하였다. 나무딸기 추출물이 RAW264.7 세포의 생존력에 미치는 영향은 Fig. 3A와 같다. 대조군과 나무딸기 추출물(1, 2.5, 5, 10, 20 mg/mL)을 24시간 처리한 실험군의 세포 생존율을 비교한 결과, 다섯 가지 나무딸기류 과일추출물 모두 2.5 mg/mL 이하의 농도에서는 세포독성이 없는 것으로 나타나( $p>0.05$ ), 일반 세포에 독성

을 미치지 않는 농도(0.1~0.5 mg/mL)에서 추후 실험을 수행하였다.

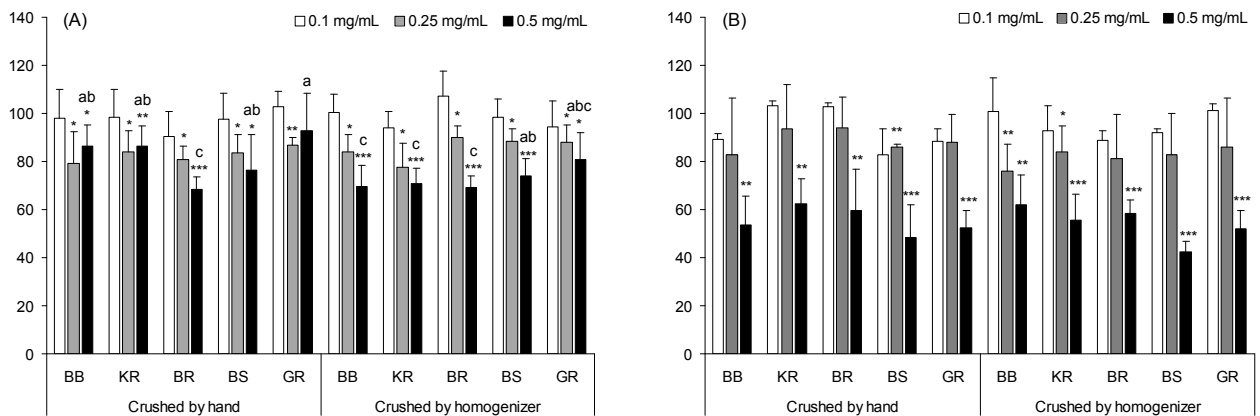
NO는 대식세포에서 생성되는 활성산소의 일종으로 염증 유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 본 연구에서 사용한 RAW264.7 세포는 항산화 물질의 NO 소거능력을 평가하는 모델로 많이 사용된다. 나무딸기류 과일추출물을 처리한 RAW264.7 세포에 LPS를 사용하여 염증을 유발시켜 NO를 생성하게 한 후, 그 소거능을 측정한 결과는 Fig. 3B와 같다. MTT assay를 수행하여 LPS(100 ng/mL)에 의한 세포독성이 없는 것을 확인하였다. LPS를 처리하지 않은 대조군의 NO 농도는 4.3  $\mu\text{M}$ 로 매우 낮았으며, LPS를 처리하여 염증을 유발한 군에서는 42.1  $\mu\text{M}$ 로 현저히 높았다. 다섯 가지의 나무딸기류 과일추출물 모두 0.25 mg/mL 이상의 농도에서 LPS를 처리한 대조군에 비하여 유의적인 NO 소거능을 보였으며, 0.5 mg/mL의 농도에서는 갈아서 추출한 black berry 추출물이 유의적으로 가장 높은 NO 소거능을 보였고( $p<0.05$ ), 과일을 으개서 추출한 것과 갈아서 추출한 것 간에 차이는 없었다. 이러한 결과는 LPS로 염증을 유발시킨 RAW264.7 세포에서 blackberry 추출물(250  $\mu\text{g/mL}$ )이 15.6%의 NO 생성을 감소시켰다는 Wang과 Mazza(23)의 결과와 유사하며, Jeong 등(7)도 염증을 유발한 RAW 264.7 세포에서 black raspberry(500  $\mu\text{g/mL}$ ) 에탄올추출물이 NO 생성을 25% 정도 감소한 것으로 보고하였다.

#### 암세포 항증식 효과

다섯 가지 나무딸기류 과일추출물의 암세포 증식 억제효과를 알아보기 위하여 MTT assay를 수행하였으며, 24시간 동안 처리한 나무딸기 추출물이 대장암세포인 HT-29 세포와 위암세포인 KATO-3 세포의 증식에 미치는 영향은 Fig. 4에 나타났다. 나무딸기류 과일추출물을 0.1, 0.25, 0.5 mg/mL의 농도로 HT-29 세포와 KATO-3 세포에 처리하였을 때 이들 세포의 증식을 각각 3~32%와 0~57%씩 억제시켰다. 갈아서 추출한 golden raspberry를 제외한 모든 나무딸기류 과일추출물이 0.25 mg/mL와 0.5 mg/mL의 농도에서 HT-29 암세포의 증식을 유의적으로 억제했다. Blackberry와 Korean raspberry는 0.5 mg/mL 농도에서 갈아서 추출한 추출물이 으개서 추출한 것보다 유의적으로 암세포 증식을 억제했으며( $p<0.05$ ), black raspberry와 boysenberry 추출물은 추출방법이 암세포 증식 억제에 영향을 주지 않았다( $p>0.05$ ). 다섯 종류의 나무딸기 추출물은 0.5 mg/mL의 농도에서 과일의 형태와 상관없이 유의적으로 KATO-3 세포의 증식을 억제하였으며( $p<0.01$ ,  $p<0.001$ ), 갈아서 추출한 blackberry와 Korean raspberry 추출물과 으개서 추출한 boysenberry 추출물은 0.25 mg/mL의 농도에서도 유의적으로 암세포의 증식을 억제하였다. 이러한 결과는 나무딸기류 과일추출물의 암세포증식 억제효과는 암세포의 종류에 따라 달라질 수 있음을 보여주며, 과일 추출 방법도 일부 영향을 줄 수 있음을 의미한다. 이 결과는 다양한 방법으로 추출한 black rasp-



**Fig. 3.** Cell viability (A) and NO production (B) in RAW264.7 cells treated with the *Rubus* fruit extracts. mg/mL: freeze-dried extract/medium. BB, blackberry; KR, Korean raspberry; BR, black raspberry; BS, boysenberry; GB, golden raspberry. Values are means  $\pm$  standard deviations (n=3). Values with different letters within the same concentration are significantly different (p<0.05; one-way ANOVA and Duncan's multiple range test). \*, \*\*, \*\*\*Statistical significance is based on the difference when compared with the cells without the fruit extracts (p<0.05, p<0.01 or p<0.001).



**Fig. 4.** Anti-proliferation activities of *Rubus* fruit extracts against human HT-29 colon cancer cells (A) and human KATO-3 gastric cancer cells (B). mg/mL: freeze-dried extract/medium. BB, blackberry; KR, Korean raspberry; BR, black raspberry; BS, boysenberry; GB, golden raspberry. Values are means  $\pm$  standard deviations (n=3). Values with different letters within the same concentration are significantly different (p<0.05; one-way ANOVA and Duncan's multiple range test). \*, \*\*, \*\*\*Statistical significance is based on the difference when compared with the cells without the fruit extracts (p<0.05, p<0.01 or p<0.001).

berry 과일추출물(0.05~0.25 mg/mL)이 씨앗의 혼입유무에 따른 차이 없이 HT-29 세포의 증식을 억제했다는 Jeong 등(7)의 결과와 유사하며, Seeram 등(5)도 blackberry, black raspberry, red raspberry를 비롯한 각종 berry의 추출액(0.025~0.2 mg/mL)이 농도가 증가함에 따라 인간 구강암, 유방암, 결장암, 전립선암 세포의 증식을 억제하는 효과가

증가한다고 보고했다.

나무딸기류 과일추출물의 암세포 증식 억제효과와 NO 소거능의 상관관계를 분석한 결과, NO 소거능과 HT-29 증식 억제율과의 상관계수는 0.602(p<0.001)였고, KATO-3 증식 억제율과의 상관계수는 0.498(p<0.001)이었다(Fig. 5). 과일의 형태에 따라서는 갈아서 추출한 나무딸기류 과일추출물

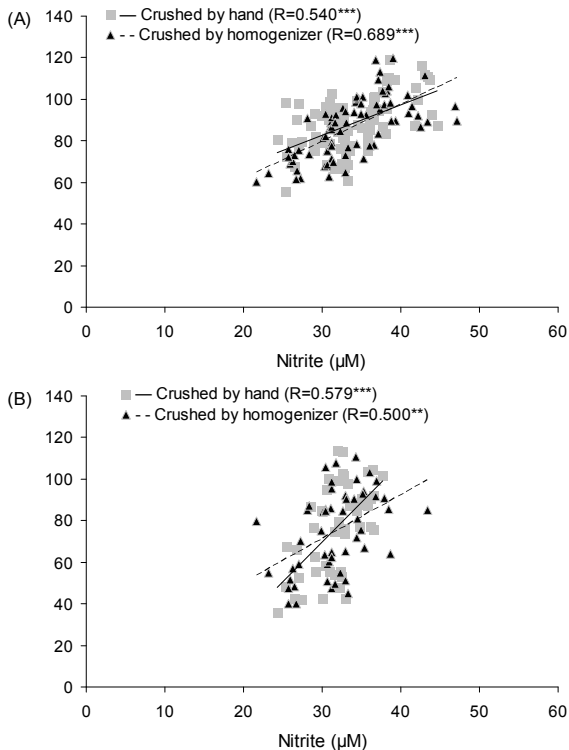


Fig. 5. Pearson's correlation coefficient (R) analysis of anti-proliferation activities of gastrointestinal cancer cells treated with *Rubus* fruit extracts. \*\*, \*\*\*R value with significant difference at  $p < 0.01$  or  $p < 0.001$ .

을 처리한 세포의 상관계수가 0.689( $p < 0.001$ )로서 으깨어서 추출한 추출물을 처리한 세포의 상관계수(0.540,  $p < 0.001$ )보다 높았고, KATO-3 세포는 으깨서 추출한 추출물을 처리한 세포의 상관계수(0.579,  $p < 0.001$ )가 같아서 추출한 나무딸기류 과일추출물을 처리한 세포의 상관계수(0.500,  $p < 0.01$ )보다 높았다. 이러한 결과는 나무딸기류 과일추출물의 NO 소거능이 증가할수록 암세포 증식 억제효과도 증가한다는 상관관계를 설명할 수 있다. 또한 암세포의 종류에 따라서 증식을 억제하는 유효성분이 다르고 나무딸기류의 종류에 따라서 씨앗의 성분도 다르므로(24), 과일의 추출 시 씨앗 성분의 혼입 유무도 암세포 항증식 효과에 영향을 줄 가능성이 있다고 본다.

## 요 약

본 연구에서는 국내에서 재배한 나무딸기류 과일(blackberry, Korean raspberry, black raspberry, boysenberry, golden raspberry)을 손으로 으깨거나 녹즙기를 사용하여 추출하여 이 추출물의 항산화 성분 및 항산화능을 분석하고, *in-vitro* 모델을 이용하여 각 추출물의 NO 소거능과 암세포 항증식 활성을 분석하였다. 과일추출물의 총 polyphenol과 flavonoid 함량은 각각 0.6~8.9 mg/g과 0.1~7.9 mg/g으로 그 종류에 따라 다양하였다. Black raspberry 추출물은 갈지

않고 추출하여도 다른 나무딸기류 과일에 비하여 polyphenol과 flavonoid를 매우 많이 함유하고 있었으며, blackberry, Korean raspberry, golden raspberry를 갈아서 추출한 것이 으깨어서 추출한 것보다 polyphenol 함량과 항산화능이 유의적으로 높았다. 또한 나무딸기류 과일추출물의 항산화능은 총 polyphenol( $R=0.995$ ) 및 flavonoid( $R=0.967$ ) 함량이 높을수록 증가하는 상관관계가 있었다. 나무딸기류 과일추출물 모두 0.25 mg/mL 이상의 농도에서 유의적인 NO 소거능을 보였으며, 과일을 으깨어 추출한 것과 갈아서 추출한 것 간에 차이는 없었다. 나무딸기류 과일추출물을 0.1, 0.25, 0.5 mg/mL의 농도로 HT-29와 KATO-3 암세포에 처리하였을 때 이들 세포의 증식을 각각 3~32%와 0~57%씩 억제시켰다. Blackberry와 Korean raspberry는 0.5 mg/mL 농도에서 갈아서 추출한 추출물이 으깨 것보다 유의적으로 HT-29 암세포 증식을 억제했으며, KATO-3 암세포에서는 과일을 으깨어 추출한 것과 갈아서 추출한 것 간에 차이가 없었다. 나무딸기류 과일추출물의 NO 소거능이 증가할수록 HT-29( $R=0.602$ )와 KATO-3( $R=0.498$ ) 암세포 증식 억제효과도 증가하였다.

## 감사의 글

이 논문은 2011년 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구(중견연구사업, 20110010846)이며, 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Pantelidis GE, Vasilakakis M, Manganaris GA, Diamantidis Gr. 2007. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chem* 102: 777-783.
- Sariburun E, Sahin S, Demir C, Turkben C, Uylaser V. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *J Food Sci* 75: C328-C335.
- Dossett M, Lee J, Finn CE. 2010. Variation in anthocyanins and total phenolics of black raspberry populations. *J Funct Foods* 2: 292-297.
- Ono M, Tateishi M, Masuoka C, Kobayashi H, Igoshi K, Komatsu H, Ito Y, Okawa M, Nohara T. 2003. A new triterpene glucosyl ester from the fruit of the blackberry (*Rubus allegheniensis*). *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 51: 200-202.
- Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, Heber D. 2006. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *J Agric Food Chem* 54: 9329-9339.
- Reyes-Carmona J, Yousef GG, Martinez-Peniche RA, Lila MA. 2005. Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions. *J Food Sci* 70: S497-S503.
- Jeong JH, Jung H, Lee SR, Lee HJ, Hwang KT, Kim TY.

2010. Anti-oxidant, anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the extracts from black raspberry fruits and wine. *Food Chem* 123: 338-344.
8. Bowen-Forbes CS, Zhang Y, Nair MG. 2010. Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *J Food Compos Anal* 23: 554-560.
  9. Jun HJ, Wen Q, Lee JH, Jeun J, Lee HJ, Lee KG, Oh SK, Lee SJ. 2012. Effects of Korean black raspberry wines on hepatic cholesterol metabolism and retinal vascular formation *in vitro*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 55: 249-257.
  10. Lee BK, Shin HH, Jung JH, Hwang KT, Lee YS, Kim TY. 2009. Anthocyanins, polyphenols and antioxidant activities of black raspberry exudates. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 125-130.
  11. Juranic Z, Zizak Z, Tasic S, Petrovic S, Nidzovic S, Laposavic A, Stanojkovic T. 2005. Antiproliferative action of water extracts of seeds or pulp of five different raspberry cultivars. *Food Chem* 93: 39-45.
  12. Huang HP, Chang YC, Wu CH, Huang CN, Wang CJ. 2011. Anthocyanin-rich *Mulberry* extract inhibit the gastric cancer cell growth *in vitro* and xenograft mice by inducing signals of p38/p53 and c-jun. *Food Chem* 129: 1703-1709.
  13. Liu M, Li XQ, Weber C, Yee CY, Brown J, Liu RH. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *J Agric Food Chem* 50: 2926-2930.
  14. Jung J, Son MY, Jung S, Nam P, Sung JS, Lee SJ, Lee KG. 2009. Antioxidant properties of Korean black raspberry wines and their apoptotic effects on cancer cells. *J Sci Food Agr* 89: 970-977.
  15. Singleton VL, Noble AC. 1976. Wine flavor and phenolic substances. *ACS Symposium Series*. p 47-70.
  16. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
  17. Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.
  18. Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63.
  19. Izumi S, Ohno N, Yadoama T. 1997. Down-regulation of LPS-induced nitric oxide synthesis of murine macrophages by oral administration of Sho-saiko-to. *Drug Dev Res* 40: 48-55.
  20. Gansch H, Weber CA, Lee CY. 2009. Antioxidant capacity and phenolic phytochemicals in black raspberries. *New York Fruit Quarterly* 17: 20-23.
  21. Ozgen M, Reese RN, Tulio AZ Jr, Scheerens JC, Miller AR. 2006. Modified 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *J Agric Food Chem* 54: 1151-1157.
  22. Du G, Li M, Ma F, Liang D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chem* 113: 557-562.
  23. Wang J, Mazza G. 2002. Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem* 50: 850-857.
  24. Van Hoed V, De Clercq N, Echim C, Andjelkovic M, Leber E, Dewettinck K, Verhé R. 2009. Berry seeds: a source of specialty oils with high content of bioactives and nutritional value. *J Food Lipids* 16: 33-49.

(2012년 8월 6일 접수; 2012년 8월 30일 채택)