

해면으로부터 분리된 Bromotopsentin의 항산화활성

이만기¹ · 김동규^{2*}

¹인제대학교 자연과학대학 사회체육학과, ²인제대학교 자연과학대학 의생명화학과

Antioxidant Activities of Bromotopsentin from the Marine Sponge *Spongisorites* sp.

Man Gi Lee¹ and Dong-Kyoo Kim^{2*}

¹Department of Sports and Leisure Studies, Inje University, 607 Aubang-dong, Gimhae 621-749, Korea

²Department of Biomedical Chemistry, Inje University, 607 Aubang-dong, Gimhae 621-749, Korea

Abstract – Bromotopsentin (BSM) is a bisindole alkaloid compound, which is recognized as a metabolite of the marine sponge *Spongisorites* sp. In this study, the antioxidant activity of BSM was investigated. The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay, the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay, the superoxide radical scavenging (NBT) assay, the lipid peroxidation and hydroxyl radical-induced DNA damage assays were carried out to evaluate the antioxidant activity of BSM. It was found that BSM had stronger scavenging activity on the stable free radical DPPH and superoxide radical than L-ascorbic acid with an IC₅₀ value of 62 and 64 μM, respectively. The TEAC value which indicated the total antioxidant capacity of BSM was about 0.8, which was also stronger than L-ascorbic acid. About 1.3 μM of BSM induced 50% inhibition of lipid peroxidation. 60 nM of BSM exhibited a significant protective activity against DNA strand scission by hydroxyl radical on pBR322 DNA. Taken together, we suggest that BSM possesses strong antioxidant activity, and could be a valuable new addition to the list of anti-aging chemotherapeutic agents.

Key words – Marine Sponge, Antioxidant, Bromotopsentin, Reactive Oxygen Species

자유 라디칼들은 쌍을 이루지 않는 전자를 포함하고 있는 종들이다. Superoxide 라디칼(O₂⁻), hydroxy 라디칼(OH)과 같은 산소 라디칼과 H₂O₂와 singlet oxygen(¹O₂)와 같은 비자유라디칼 들은 산화환원반응 과정에 의해 만들어진 활성 산소의 다양한 형태들이다.¹⁾ 이들은 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase와 같은 특정한 효소들에 의해 제거된다. 비타민 A, C, E 결핍과 위에서 언급한 효소들이 소량 존재하여 자유 라디칼이 과잉 생산되면 산화적 스트레스를 유발한다.²⁾ 이들 산소라디칼들은 탄수화물, 단백질, 지방 그리고 DNA³⁾와 같은 생체분자에 산화적 손상을 유도하여 노화촉진, 암, 심혈관 질환, 신경퇴행성 질환, 염증 등을 일으킨다.⁴⁻⁶⁾ 임상에서는 암환자들의 항암치료 독성을 완화시키고 치료효과를 향상시키기 위하여 항산화제를 보충한 치료를 받는다.⁷⁾

해양환경은 생리활성 천연물의 뛰어난 저장소이며, 이 많은 물질들은 해양환경의 물리적, 화학적 상태가 육지의 환

경과 두드러지게 다르기 때문에 독특한 구조와 화학적 특성을 보인다. 최근에 항암, 항염, 무통각증, 면역조절, 알레르기 그리고 항바이러스성과 같은 활성이 있는 화합물들이 해양환경에 매우 풍부하게 존재하는 것으로 알려졌다. 지금까지 해양으로부터 얻은 화합물들인 cephalosporins, cytarabine, vidarabine⁸⁾과 bryostatin-1, squalamine, ET743 등은 시판이 허가되었다.⁹⁾ 더욱이 12가지 이상의 더 많은 해양화합물 또는 그 유도체는 현재 임상시험 중에 있다. 바다의 해면동물에는 구조적으로 독창적이고 생물학적인 활성을 가지는 2차 대사산물이 풍부하게 존재하며 약 개발에 중요한 공급원이 된다.¹⁰⁾

인돌(indole)을 포함한 알칼로이드(alkaloid)는 이기벌레류, 강장동물, 해면동물과 피낭류를 포함한 다양한 해양의 무척추동물로부터 분리된다. 이종고리(heterocyclic) 단위로 연결된 두 개의 인돌로 이루어져 있는 비스인돌 알칼로이드(bisindole alkaloid)는 해면동물에 특히 풍부하다. 해면동물 *Topsentia genitrix*로부터 분리된 비스인돌 이미다졸인 topsentin과 그 유도체들의 구조와 비교하면,¹¹⁾ 대사물들은

*교신저자(E-mail): chemkdg@inje.ac.kr
(Tel): +82-55-320-3222

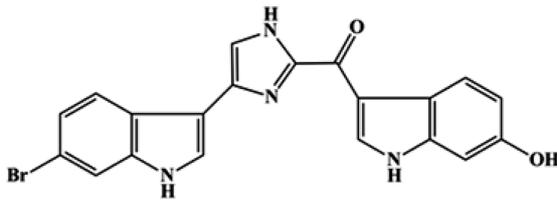


Fig. 1. Structure of bromotopsentin (BSM).

비스인돌 부분을 포함한 다양한 탄소 골격과 기능을 가진다.¹²⁾ 이같은 화합물들은 α_1 아드레날린 수용체와 결합하는 것뿐만 아니라 세포독성, 항바이러스성, 항균성과 항염성 등의 넓은 영역의 약리활성을 가지므로¹³⁾ 의학분야와 유기합성 연구에 매력적인 표적이 되고 있다.

Fig. 1에 나타난 bromotopsentin (BSM)은 *Spongisorites* 종의 해면동물에서 메탄올 추출물로부터 분리된 비스인돌 알칼로이드 화합물이다. Bromotopsentin은 α_{1a} 와 α_{1b} 아드레날린 수용체와 리간드가 결합하는 것을 저해하므로¹⁴⁾ α_1 아드레날린 길항제는 고혈압과 전립선비대증의 치료제로 사용될 가능성이 있다. 위에서 언급한 것처럼 BSM의 여러 가지 생리활성에 대한 연구가 많이 진행되었지만 항산화 활성에 대해서는 알려진 바가 없다. 본 연구에서는 다양한 방법으로 BSM의 항산화 활성을 규명하였다. BSM은 효과적으로 자유라디칼을 제거하였고, 수산화라디칼에 의하여 유도되는 DNA 손상을 보호하였고, 지질과산화 과정을 억제하는 항산화활성을 가졌다.

재료 및 방법

실험재료 - Dimethyl sulfoxide(DMSO)는 Sigma Chemical Co.에서, pBR322 DNA는 일본의 Takara shuzo Co.로부터, agarose는 미국의 Promega Co.로부터 구매하였다. Xanthine oxidase, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), Trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt], NBT(nitrobluetetrazolium), BHT(butylated hydroxytoluene)는 Sigma 회사로부터 구입하였다. 그 외 다른 시약들은 분석에 적합한 것들을 사용하였다.

동물 - 12주된 수컷 Sprague-Dawley는 한국의 효창과학으로부터 구매하였고 깨끗한 철사줄로 연결된 폴리에틸렌 케이지에서 사육하였다. 모든 동물들은 12시간 light/dark 주기로 $\pm 23.1^\circ\text{C}$ 에서 사육하였다. 물과 음식은 자유롭게 이용되었고 실험을 시작하기 2주 전에는 환경에 적응되었다. 모든 서술된 절차는 대학의 동물 윤리위원회에 의해 재검토되고 허락되었다(ARC 20071206A).

BSM 제조 - BSM은 *Spongisorites* 종 해면동물에서 분리되었고,¹⁵⁾ 부산대학교의 정지형 박사의 실험실로부터 받았다. BSM의 stock 용액은 DMSO로 제조하여 -20°C 에서 보

관하였고 실험을 하기 전에 희석하여 사용하였다.

DPPH 자유라디칼 제거활성 - BSM의 항산화 활성은 안정한 DPPH 자유라디칼의 제거활성으로 측정한다.¹⁶⁾ DPPH는 보라색을 나타내는 안정한 자유 라디칼로서, 이는 노란색을 나타내는 diphenyl picrylhydrazine로 환원이 된다. 다양한 농도의 BSM을 0.4 mM의 DPPH-에탄올 용액과 50 mM의 Tris-HCl pH 7.4 완충용액을 2:1 비로 혼합한 용액에 가한다. 실온에서 30분 동안 반응시킨 후, DPPH 자유라디칼의 환원정도를 517 nm의 흡광도에서 측정하였다. 아스코빈산은 양성대조군으로 사용되었다. DPPH 자유라디칼 제거활성 퍼센트(% DPPH radical scavenging activity)는 다음과 같이 계산하였다.

$$\%DRSA = [(Ac - A)/Ac] \times 100$$

Ac는 control의 흡광도이고 A는 시료의 흡광도이다.

ABTS 라디칼 제거활성 - BSM의 trolox 상당 항산화활성은 Re 등의 방법에 따라 측정하였고,¹⁷⁾ L-ascorbic acid를 항산화 표준물질로 사용하였다. ABTS를 7 mM의 농도로 물에 녹였다. ABTS stock 용액과 2.45 mM의 potassium persulfate을 반응시켜 생성된 파랑/초록의 ABTS의 라디칼 양이온($\text{ABTS} \cdot^+$)을 사용하기 전에 12시간 동안 실온에서 어두운 곳에서 방치하였다. 여러 가지 농도의 BSM을 미리 생성시킨 라디칼 양이온 용액에 가한 뒤, 탈색의 정도를 743 nm에서 측정하여 ABTS \cdot^+ 제거 활성 퍼센트(% ABTS radical scavenging activity)를 아래의 식에 따라 계산하였다.

$$\%ARSA = [(A_c - A)/A_c] \times 100$$

Ac는 control의 흡광도이고 A는 시료의 흡광도이다. TEAC 값은 BSM의 항산화활성 지표로 사용하였고 농도곡선의 기울기를 표준 Trolox 농도곡선의 기울기로 나누어서 계산하였다.

Superoxide 라디칼 제거 활성 - Superoxide 라디칼 제거 활성은 Kirby 등의 방법을 약간 수정한 방법에 따라 측정하였다.¹⁸⁾ 시약들은 50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{KOH}$ 완충용액(pH 7.4)으로 제조하였다. 96-well plate의 반응 혼합물은 15 mM Na_2EDTA 20 μl , 0.6 mM NBT 50 μl , 3 mM hypoxanthine 30 μl , xanthine oxidase 50 μl (1 unit in 10 mL of buffer), BSM 5 μl , 완충용액 145 μl 를 포함한다. 25°C 에서 xanthine oxidase를 가하여 반응을 시작하였고, plate reader를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 20초 단위로 5분까지 측정하였다. 대조군은 BSM 대신 DMSO 5 μl 로 하였다. 아스코빈산은 양성대조군으로 사용되었다. Superoxide 라디칼 제거 활성 퍼센트(% superoxide radical scavenging activity)는 아래 식에 따라 나타내었다.

$$\%SRSA = [(Rc - R)/Rc] \times 100$$

Rc는 control의 반응속도이고 A는 시료의 반응속도이다.

수산화 라디칼에 의해 유도된 DNA 손상에 대한 BSM의 저해효과 - 수산화 라디칼에 의해 유도된 DNA 손상에 대한 BSM의 저해 활성은 Keum 등의 방법에 따라 측정하였다.¹⁹⁾ 반응 혼합물 30 μ l는 pBR322 plasmid DNA 0.15 μ g, 56.5 mM H₂O₂, 10 mM Tris-0.1 mM EDTA 완충용액(pH 8.0)을 포함하고 있다. DMSO 5 μ l에 녹아있는 다양한 농도의 BSM (BSM 최종 농도는 15, 30, 60 nM)을 H₂O₂를 가하기전에 혼합물에 가하였다. 12W UV lamp를 20 cm의 거리에 두고 반응 혼합물에 조사하여 수산화 라디칼을 생성시켰다. 실온에서 30분 동안 반응시킨 후, 반응은 loading buffer (0.25% bromophenol blue와 50% sucrose)를 가하여 중지시키고 0.8%의 아가로스 젤 전기영동법에 의해 분석하였다. 젤을 ethidium bromide로 염색하고 물로 탈색하여 사진으로 분석하였다.

쥐 간균질액의 지질 과산화 - 12주 지난 Sprague-Dawley 수컷 쥐로부터 얻은 간(10 g) 균질액을 HEPES-KCl 완충용액(1.15% KCl, 0.02 M HEPES) 50 mL로 제조하여 3000 rpm에서 20분 동안 원심분리하였고, 상층액은 TBA(thiobarbituric acid)에 대한 MDA(malondialdehyde) 정도를 측정하는 지질 과산화 실험에 사용되었다.²⁰⁾ 반응혼합물 500 μ l에는 간 균질액(1.25 mg), 1 M FeSO₄, 1 M 아스코빈산, 220 μ l HEPES-KCl 완충용액과 다양한 농도의 BSM을 포함한다. 37°C에서 하룻밤 동안 반응시킨 후, 0.67% TBA 용액을 2배 부피만큼 첨가하고, 100°C에서 20분 동안 가열하여 발색물질을 추출하기 위하여 1배 정도의 n-부탄올을 가하였다. 혼합물을 3000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 상층액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지질 과산화 저해 퍼센트(% lipid peroxidation inhibition)는 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\%LPI = [(Ac - A)/Ac] \times 100$$

Ac는 control의 흡광도이고 A는 시료의 흡광도이다.

통계 분석법 - 정량적인 실험을 위하여 3개의 독립된 실험의 평균±표준편차로 값을 나타내었다. 통계분석은 one-way analysis of variance(ANOVA)에 따라 처리하였고 집단 평균은 Duncan's test에 의하여 비교하였다. 각 실험의 측정치와 대조군과의 차이는 t-test로 나타내었다. 유의성에 대한 기준은 $p < 0.05$ 로 하였다. 통계와 그래프 작성은 19번째 버전의 SPSS(SPSS, Chicago, IL, USA)와 Microsoft Excel 2007(Roselle, IL, USA)을 사용하였다.

결 과

BSM의 DPPH 자유 라디칼 제거활성 - 널리 알려진 항산화제인 아스코빈산을 대조물질로 사용하여 BSM의 자유 라디칼 제거활성을 측정하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이,

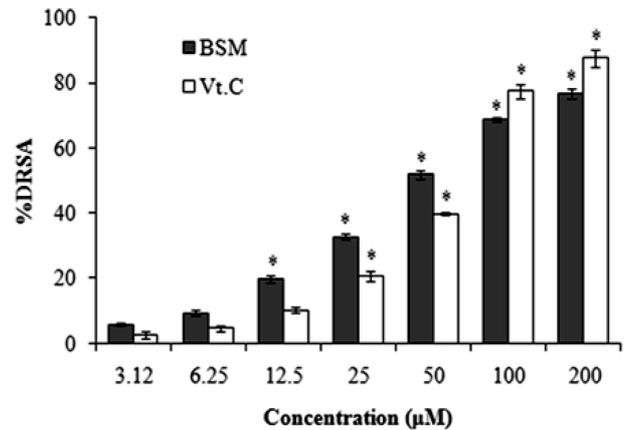


Fig. 2. DPPH radical scavenging activities (DRSA) of BSM and L-ascorbic acid. Data are the mean \pm S.D. of at least three experiments. * $p < 0.05$, significantly differ from control.

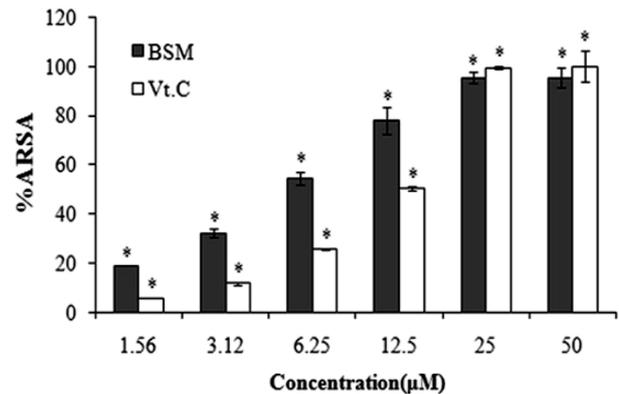


Fig. 3. ABTS radical scavenging activities (ARSA) of BSM and L-ascorbic acid. Data are the mean \pm S.D. of at least three experiments. * $p < 0.05$, significantly differ from control.

BSM은 12.5 μ M에서 200 μ M의 농도 범위에서 농도 의존적으로 안정한 DPPH 라디칼을 제거하였다($p < 0.05$). BSM과 아스코빈산의 IC₅₀ 값은 각각 62 μ M과 64 μ M이었으며, BSM은 아스코빈산과 거의 비슷한 DPPH 라디칼 제거활성을 가지는 것으로 생각되었다.

ATBS 라디칼 제거활성 - ABTS 라디칼 양이온에 대한 BSM과 아스코빈산의 제거활성은 Fig. 3에 나타내었다. BSM은 농도 의존적으로 ABTS \cdot^+ 를 제거하였으며($p < 0.05$), 아스코빈산(IC₅₀ 값 12.5 μ M)보다 낮은 10.8 μ M의 IC₅₀ 값을 보였다. BSM과 아스코빈산의 TEAC 값은 각각 0.8과 1.0으로 BSM이 아스코빈산보다 강한 항산화활성을 나타내었다.

Superoxide 라디칼 제거활성 - Superoxide 라디칼(O₂ \cdot^-)은 여러가지 생물학적인 반응이나 광화학 반응에서 생성되는 강력한 독성물질이다. BSM의 superoxide 라디칼 제거활성은 hypoxanthine-xanthine oxidase 효소계에 의하여 측정하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 BSM은 0.25 μ M에서

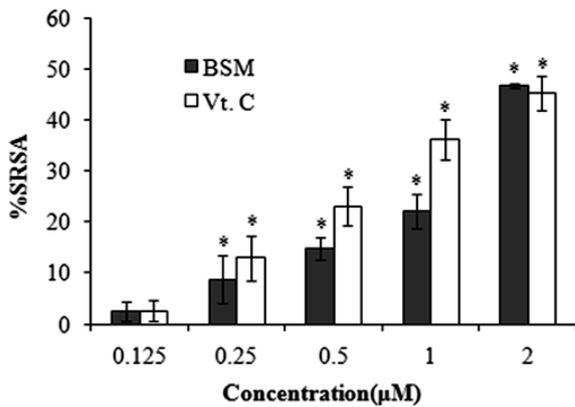


Fig. 4. Superoxide radical scavenging activities (SRSA) of BSM and L-ascorbic acid. Data are the mean±S.D. of at least three experiments. **p*<0.05, significantly differ from control.

2 µM 농도범위에서 농도 의존적으로 superoxide 라디칼을 제거하였다(*p*<0.05). BSM의 IC₅₀ 값은 2.2 µM이었으며 아스코빈산과 거의 비슷하였다(2 µM).

수산화 라디칼에 의해 유도된 DNA 손상에 미치는 BSM의 억제 효과 - 수산화 라디칼은 DNA 염기 변이와 가닥의 절단을 유도하여 암과 같은 심각한 병들을 유발할 지도 모른다.²¹⁾ 생화학적인 과정에서 superoxide 라디칼들은 superoxide dismutase에 의하여 과산화수소로 변환되고, 이것은 철이나 구리같은 전이금속의 존재하에서 반응성이 매우 강한 수산화라디칼을 생성한다. 본 실험에서는 수산화라디칼에 의하여 pBR322 DNA 가닥절단에 대한 BSM의 보호효과를 측정하였다. Fig. 5와 같이 수산화라디칼에 의해 유도되는 DNA 절단은 농도 의존적으로 BSM에 의하여 보호되었고, 60 nM의 BSM 농도에서 약 75% 정도 DNA의 절단이 저해되었다. BSM은 수산화라디칼에 의해 유도되는 가닥 절단으로부터 DNA를 보호하였으며 결과를 나타내지 않았지만 아스코빈산은 효과가 거의 없었다. BSM이 H₂O₂와 직접적으로 반응하여 DNA 절단을 보호하는지 또는 OH·과 직접 반응하여 보호하는지는 계속적으로 실험이 필요할 것으로 생각되었다.

쥐 간 균질액의 지질 과산화에 BSM의 저해효과 - 지질 과산화는 효소 또는 비효소 반응에서 일어나는 자유라디칼과 관련된 과정이다. 지질과산화 과정에서 MDA와 4-hydroxynonenal과 같은 세포독성물은 세포의 기능과 주요한 인간 질병의 원인에 영향을 줄 수 있기 때문에 지질 과산화에 대한 관심이 증가하고 있다.²²⁾ 본 실험에서는 쥐의 간 균질액에서 철이온과 아스코빈산에 의해 유도된 지질 과산화에 대한 BSM의 저해효과를 측정하였다. 그림 6에서 보는 것처럼 BSM은 0.5 µM에서 2 µM 농도범위에서 농도 의존적으로 지질과산화를 저해하였으며(*p*<0.05), 2 µM 농도에서 80% 저해효과를 나타내었고 농도를 2 µM 이상으로 증

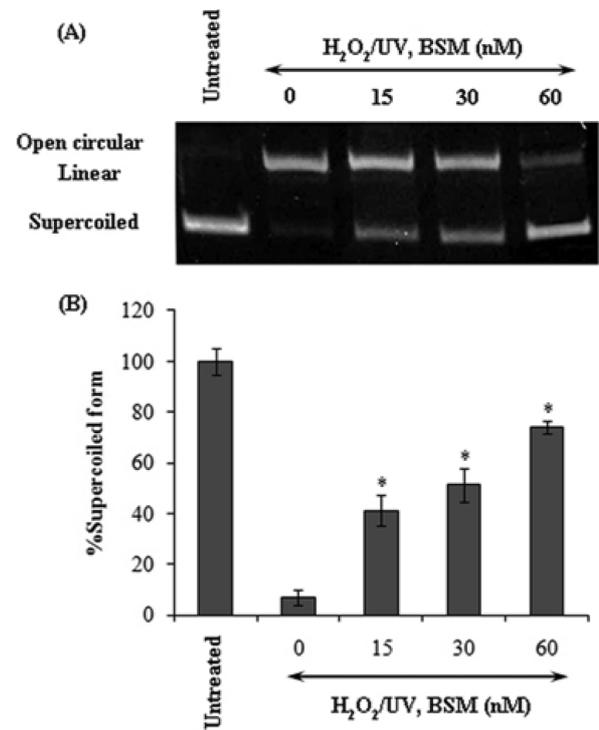


Fig. 5. Protective Effect of BSM on H₂O₂/UV Mediated Plasmid pBR322 DNA Breaks. Lane 1, no addition (only pBR322 DNA); Lanes 2-5, H₂O₂ and UV in presence of BSM at concentrations of 0, 15, 30, 60 nM, respectively (A). The plot B means % remaining supercoiled form of the plasmid DNA (B). **p*<0.05, significantly differ from vehicle-treated group.

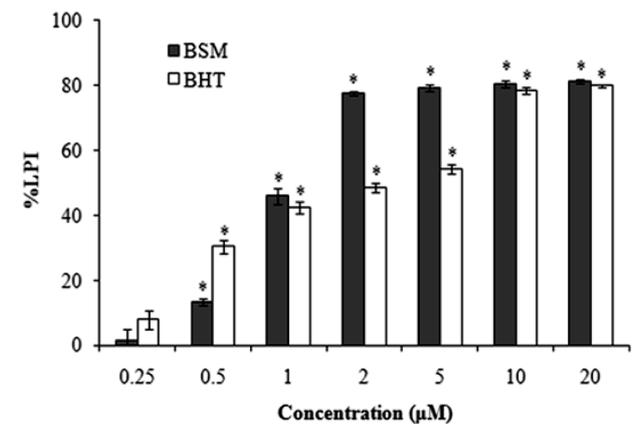


Fig. 6. Inhibitory effect of BSM on lipid peroxidation (LPI). Data are the mean±S.D. of at least three experiments. **p*<0.05, significantly differ from control.

가시켜주어도 더 이상의 저해효과는 나타나지 않았다. 반면에 널리 알려진 항산화제인 butylated hydroxytoluene(BHT)은 45% 저해효과를 보였다. BSM과 BHT의 IC₅₀ 값은 각각 1.3과 1.7 µM이었으며 BSM이 BHT보다 지질 과산화 저해 효과가 더 좋았다.

고찰

해양으로부터 cytarabine이 처음으로 항암제로 개발됨에 따라 많은 연구자들이 해양에서 새로운 항암제를 개발하고자 하였다. 해양으로부터 3,000 종 이상의 새로운 화합물이 발견되었고 일부는 임상시험에 이용되고 있다.²³⁾ BSM은 비스인돌 알칼로이드로서 바다의 *Spongosorites* 종 해면동물로부터 얻은 2차 대사물이다. 비스인돌 알칼로이드는 여러 가지 종양세포에 대한 세포독성효과를 보고한 것을 제외하고는 항산화 활성에 대한 보고는 거의 없다. 본 연구에서는 비스인돌 알칼로이드의 항산화 활성을 규명하고자 한다.

자유 라디칼이 파킨슨병, 관상동맥성 심장병, 암과 같은 질환을 유발한다는 것은 널리 알려져 있다.²⁴⁾ 아스코빈산, 요산, 글루타티온과 같은 작은 분자들이 항산화제로서 중요한 역할을 한다. 폴리페놀 항산화제는 자유라디칼을 포집함으로써 ROS 손상으로부터 보호하는 역할을 한다. 사람에게 있어서 세포외에 존재하는 가장 중요한 항산화제는 혈장에 있는 요산일 것이다.²⁵⁾ 아스코빈산은 동물과 식물에 존재하는 단당류 항산화제이며, 세포내에서 disulfide isomerase와 glutaredoxins에 의하여 글루타티온과 반응에 의하여 환원된 형태로 유지된다. 아스코빈산은 hydrogen peroxide와 같은 활성산소를 환원시키는 환원제이다.

항산화제는 활성산소로부터 보호함으로써 사람의 건강을 유지하는데 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.²⁶⁾ 많은 화합물들의 항산화활성을 측정하기 위한 분석법이 개발되었다.²⁷⁾ 각각의 방법은 다른 종류의 라디칼을 생성하는 것과 관련이 있다. 산화-항산화 과정의 복잡함때문에, BSM의 항산화활성을 포괄적으로 제시하는 하나의 방법은 없다. 본 연구에서 수행한 5가지 항산화활성 측정법(DPPH와 ABTS 자유라디칼 제거활성, superoxide 라디칼 제거활성, 수산화라디칼에 의해 유도된 DNA 손상 저해활성, 지질 과산화 저해활성 측정법)으로 BSM의 항산화활성을 확인하였다. 전자공여자인 아스코빈산은 여러 가지 라디칼을 환원시킴으로써 항산화활성을 가진다.²⁸⁾ 따라서 대부분의 항산화실험에서 아스코빈산을 대조물질로 사용하였다. 본 실험에서 사용한 분석방법에 의하면 BSM은 DPPH·, ABTS·⁺ 그리고 O₂·⁻를 제거하는 활성을 나타내었다. 이와 같은 분석방법들은 BSM에 의하여 수소나 전자 공여에 대한 정보를 제공한다. 자유라디칼의 홀수 전자는 자유라디칼 소거자의 존재 하에서 짝을 이루게되고 흡광도는 사라지게되며 결과적으로 생기는 탈색정도는 얻은 전자수에 따라 화학양론적으로된다.²⁹⁾ 이와 같은 결과는 BSM의 인돌 고리에 위치한 페놀성 수산기의 수소 공여 능력으로 설명되어진다. 안정한 자유 라디칼인 DPPH에 대한 제거능력은 항산화적 활성을 측정하는 지표로서 널리 사용되어진다. Fig. 2와 같이, DPPH의 IC₅₀ 값은 62 μM이었고, 저해는 100 μM에서 최대치에

도달하였다. TEAC 실험은 734 nm에서 흡광도를 가지는 청록색의 발색단인 ABTS⁺ 라디칼을 제거하는 항산화제의 활성을 trolox와 비교하여 측정한다. Fig. 3에 나타난 바와 같이, 6.25 μM의 BSM 농도에서 50% 정도 억제되는 것을 볼 수 있다. 활성산소의 전구체로서 superoxide 음이온 라디칼들은 세포내 구성성분에 매우 해로운 것으로 알려졌다. Superoxide 음이온 라디칼 제거활성은 아스코빈산과 비슷하였고 2 μM 농도에서 50% 정도 억제하였다. 더욱이 BSM은 잘 알려진 항산화제인 BHT보다 지질 과산화의 더 나은 저해 작용을 하였다. 수산화라디칼에 의해 유도되는 DNA 절단 억제실험에서 BSM은 낮은 농도인 60 nM에서 보호효과를 나타내었으며, 이것은 돌연변이나 암을 일으킬 수 있는 염색체 이상으로부터 DNA를 보호하는 결과로 생각할 수가 있다.

결론

해면으로부터 유래된 BSM은 효과적으로 자유라디칼을 제거하였고, 수산화라디칼에 의하여 유도되는 DNA 손상을 보호하였고, 지질과산화 과정을 억제하는 항산화활성을 가졌다. 본 연구에서는 BSM의 항산화제로의 개발가능성을 제시하였다.

인용문헌

1. Cerutti, P. A. (1991) Oxidant stress and carcinogenesis. *European Journal of Clinical Investigation* **21**: 1-11.
2. Ellnain-Wojtaszek, M., Kruczynski, Z. and Kasprzak, J. (2003) Investigation of the free radical scavenging activity of *Ginkgo biloba* L. leaves. *Fitoterapia* **74**: 1-6.
3. Wiseman, H. and Halliwell, B. (1996) Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role of inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemistry Journal* **313**: 17-29.
4. Ames, B. N. (1983) Dietary carcinogens and anticarcinogens: Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* **221**: 1256-1264.
5. Stadtman, E. R. (1992) Protein oxidation and aging. *Science* **257**: 1220-1224.
6. Sun, Y. (1990) Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine* **8**: 583-599.
7. Borek, C. (2004) Dietary antioxidants and human cancer. *Integrative Cancer Therapies* **3**: 333-341.
8. Rayl, A. J. S. (1999) Oceans: Medicine Chests of the Future? *The Scientist* **13**: 1-4.
9. Haefner, B. (2003) Drugs from the deep: marine natural products as drug candidates. *Drug Discovery Today* **8**: 536-544.
10. Blunt, J. W., Copp, B. R., Munro, M. H., Northcote, P. T., and Prinsep, M. R. (2003) Marine natural

- products. *Natural Product Reports* **20**: 1-48.
11. Tsujii, S., Rinehart, K. L., Gunasekera, S. P., Kashman, Y., Cross, S. S., Lui, M. S., Pomponi, S. A. and Diaz, M. C. (1988) Topsentin, bromotopsentin, and dihydrodeoxybromotopsentin: antiviral and antitumor bis(indolyl)imidazoles from Caribbean deep-sea sponges of the family *Halichondriidae*. Structural and synthetic studies. *The Journal of Organic Chemistry* **53**: 5446-5453.
 12. Sakemi, S. and Sun, H. H. (1991) Nortopsentins A, B, and C. Cytotoxic and antifungal imidazolediybis[indoles] from the sponge *Spongosorites ruetzleri*. *The Journal of Organic Chemistry* **56**: 4304-4307.
 13. Oh, K. B., Mar, W., Kim, S., Kim, J. Y., Oh, M. N., Kim, J. G., Shin, D., Sim, C. J. and Shin, J. (2005) Bis(indole) alkaloids as sortase A inhibitors from the sponge *Spongosorites* sp. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **22**: 4927-4931.
 14. Phife, D. W., Ramos, R. A., Feng, M., King, I., Gunasekera, S. P., Wright, A., Patel, M., Pachter, J. A. and Coval, S. J. (1996) Marine sponge bis(indole) alkaloids that displace ligand binding to $\alpha 1$ adrenergic receptors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **6**: 2103-2106
 15. Bao, B., Sun, Q., Yao, X., Hong, J., Lee, C. O., Sim, C. J., Im, K. S. and Jung, J. H. (2005) Cytotoxic bisindole alkaloids from a marine sponge *Spongosorites* sp. *Journal of Natural Products* **68**: 711-715.
 16. Cottelle, N., Bernier, J. L., Cateau, J. P., Pommery, P., Wallet, J. C. and Gadou, E. M. (1996) Antioxidant properties of hydroxyl-flavones. *Free Radical Biology and Medicine* **20**: 35-43.
 17. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorized assay. *Free Radical Biology and Medicine* **26**: 1231-1237.
 18. Kirby, A. J. and Schmidt, R. J. (1997) The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and placebo herbs-1. *Journal of Ethnopharmacology* **56**: 103-108.
 19. Keum, Y. S., Park, K. K., Lee, J. M., Chun, K. S., Park, J. H., Lee, S. K., Kwon, H. and Surh, Y. J. (2000) Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Letter* **150**: 41-48.
 20. Buege, J. A. and Aust S. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* **52**: 302-310.
 21. Su, M. L., Yang, Y. and Yang, G. L. (2006) Quantitative measurement of hydroxyl radical induced DNA double-strand breaks and the effect of N-acetyl-L-cysteine. *FEBS Letters* **580**: 4136-4142.
 22. Halliwell, B. and Gutteridge, M. C. (1981) Formation of a thiobarbituric-acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts: The role of superoxide and hydroxyl radicals. *FEBS Letter* **128**: 3437-3452.
 23. Schwartzmann, G., da Rocha, A. B., Berlinck, R. G. S. and Jimeno, J. (2001). Marine organisms as a source of new anti-cancer agents. *Lancet Oncol.* **2**: 221-225.
 24. Bagchi, K. and Puri, S. (1998) Free radicals and antioxidants in health and disease. *Eastern Mediterranean Health Journal* **4**: 350-360.
 25. Kondakova, I., Pizarro, M. and Lissi, E. A. (1999) Total reactive antioxidant potential in human saliva of smokers and non-smokers. *Biochemistry and Molecular Biology International* **6**: 911-920.
 26. Fridovich, I. (1998) Oxygen toxicity: a radical explanation. *J. Exp. Biol.* **201**: 1203-1209.
 27. Wang, H., Cao, G. and Prior, R. L. (1996) Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44**: 701-705.
 28. Padayatty, S. J, Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.-H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S. K. and Levine, M. (2003) Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *J. Am. Coll. Nutr.* **22**: 18-35.
 29. Visavadiya, N. P, Soni, B., Dalwadi, N. and Madamwar, D. (2010) Chlorophytum borivilianum as potential terminator of free radicals in various *in vitro* oxidation systems. *Drug Chem. Toxicol.* **33**: 173-182.
- (2013. 5. 21 접수; 2013. 5. 29 심사; 2013. 6. 3 게재확정)