Comparison of proximate compositions, antioxidant, and antiproliferative activities between blueberry and *Sageretia thea* (Osbeck) M.C.Johnst fruit produced in Jeju Island

Gyeong-A Ko¹ · So Yae Koh² · Ji-yeon Ryu³ · Somi Kim Cho^{1,2,3,4}

제주산 블루베리와 상동열매의 일반성분, 항산화 및 항증식 활성 비교

고경아¹ · 고소예² · 류지연³ · 김소미^{1,2,3,4}

Received: 5 May 2017 / Accepted: 5 June 2017 / Published Online: 30 June 2017
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2017

Abstract This study was aimed to evaluate and compare the proximate composition, antioxidant and antiproliferative activities of *Sageretia thea* (Osbeck) M.C.Johnst (*S. thea*) fruit and blueberry. The calorific value, crude protein, crude fat, crude ash, and carbohydrate were higher in *S. thea* fruit than in blueberry. *S. thea* fruit and blueberry have different profile of free sugars, in which amounts of fructose, glucose, and maltose were much higher in *S. thea* fruit than in blueberry. The methanol extracts of *S. thea* fruit contain higher amounts of total polyphenol and anthocyanin compared to those of blueberry extracts. In additions, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), alkyl-, and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) radical scavenging activities are greater in *S. thea* fruit extracts. Ethyl

acetate fractions and *n*-butanol fractions of *S. thea* fruit and blueberry show the most potent scavenging activity in DPPH-, alkyl-, and ABTS-radical scavenging assay. The ethyl acetate fractions of *S. thea* fruit and blueberry are the richest fraction in polyphenol contents while the *n*-butanol fractions of those are the highest fraction in anthocyanin contents. Furthermore, both *S. thea* fruit and blueberry extracts protect human dermal fibroblast cells against a H₂O₂-induced oxidative stress. The antiproliferative activities of *n*-hexane and chloroform fraction from *S. thea* fruit and blueberry were observed in AGS human gastric cancer and MDA-MB-231 human breast cancer cells. Therefore, our results suggest for the first time that the antioxidant and antiproliferative activities of *S. thea* fruit is comparable to that of blueberry and the nutritional value of the former is even superior to that of the latter.

Somi Kim Cho (✉)
E-mail: phd.kim.somi@gmail.com; somikim@jejunu.ac.kr

¹Faculty of Biotechnology, College of Applied Life Sciences, SARI, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

²Faculty of Advanced Convergence Technology and Science, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

³School of Biomaterials Sciences and Technology, College of Applied Life Sciences, SARI, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

⁴Subtropical Tropical Organism Gene Bank, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Keywords Antioxidant · Antiproliferative · Blueberry · Proximate compositions · *Sageretia thea* (Osbeck) M.C.Johnst

서론

최근 들어 경제발전과 생활수준의 향상에 따라 건강한 삶을 지향하는 식 문화가 확대되고 있다. 식품 소재들에 의한 질병 예방, 건강증진 효능 및 노화방지에 대한 효능이 밝혀지면서, 생명현상유지뿐만 아니라 생리활성 측면에서 식품에 대한 관심이 증대되고 있다(Cho 등, 2010; Chung 2015).

베리류는 작은 열매가 모여 하나의 과실 형태를 유지하는 장과류를 총칭하는 것으로, 기능성 식품에 대한 관심이 높아짐에

따라 베리류의 섭취가 증가하고 있다(An 등, 2015). 특히, 블루베리, 딸기, 라즈베리, 아로니아, 오디 등과 같은 베리류는 플라보노이드계 색소인 anthocyanin이 다른 과일에 비해 풍부하고, phenolic acid 및 tannin과 같은 페놀화합물이 함유되어 있어 항산화, 항암, 항염증, 심혈관계 질환 예방 등에 효과가 있다고 알려져 있다(Seeram 2008; Lee 등, 2015). 대표적인 베리류 중 하나인 블루베리는 진달래과(Ericaceae) 산앵두나무속(*Vaccinium*)에 속하는 식물로 주로 북아메리카 지역에 분포하고 있다. 블루베리의 효능으로는 항산화(Sellappan 등, 2002), 항암(Seeram 등, 2006), 항당뇨(Martineau 등, 2006), 항치매(Papandreou 등, 2009) 등이 보고 된 바 있다.

상동나무(*Sageretia thea* (Osbeck) M.C.Johnst.)는 갈매나무과(Rhamnaceae) 상동나무속(*Sageretia*)에 속하는 반상록성 활엽관목으로, 지리적으로 아시아와 북아메리카에 분포하며 우리나라에서는 제주도와 남해안 지역에 분포한다(Chung 등, 2004). 잎은 가을철에 황색으로 변하고 일부는 월동하며, 꽃은 10-11월에 핀다. 열매는 다음해 4-5월에 흑자색으로 성숙하며, 블루베리와 색상이 매우 비슷하고 크기는 블루베리보다 두 배 정도 작은 편이다(Kim 등, 2011). 상동나무는 예로부터 우리나라와 중국에서 감기, 발열, 간염, 피부병 치료 등에 사용되었다(Chung 등, 2009; Song 등, 2014). 상동나무는 주로 잎의 생리활성에 대해 연구가 되어 있으며, 활성산소 소거 및 LDL 산화억제와 같은 항산화 활성(Chung 등, 2009) 과 HIV-1 protease 억제 활성(Park 등, 2002) 이 보고되었다. 또한, 상동나무 잎 추출물로부터 분리된 myricitrin, 7-O-methylmyricitrin kaempferol, 3-O- α -L-rhamnopyranoside, 7-O-methylquercetin 3-O- α -L-rhamnopyranoside, 7-O-methylmearnsitrin 성분이 항산화 활성에 기인하는 것으로 보고되었다(Chung 등, 2004).

상동열매는 예로부터 식용으로 이용되어 왔으나, 아직까지 상동열매의 영양학적 가치와 생리활성에 대한 인식이 부족하여 수요 및 활용도가 낮은 편에 속한다. 따라서 본 연구에서는 제주 지역에서 생산된 상동열매와 블루베리의 일반성분, 항산화 및 항증식 활성을 비교 분석함으로써 상동열매의 산업적 활용을 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

Folin-Ciocalteu phenol reagent, sodium carbonate anhydrous, rutin, gallic acid, 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), potassium persulphate, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azobis(2-methylpropionamid) dihydrochloride (AAPH), α -(4-pyridyl-1-oxide)-N-tert-butyl nitron (4-POBN), catechin, α -tocopherol, cyanidin-3-rutinoside는 Sigma Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. Dimethylsulfoxide (DMSO), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)는 Amresco Inc. (Solon, OH, USA)에서 구입하였으며, F-12K, Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), trypsin/EDTA, fetal bovine serum, 100× penicillin/streptomycin solution는 Invitrogen Inc. (Carlsbad, CA, USA)에서 구입하였다.

추출물 및 분획물의 조제

본 실험에 사용된 상동열매(*Sageretia thea* (Osbeck) M.C.Johnst.)는 2014년 5월 제주 서광 농가에서 재배한 것을 구입하였으며, 상동열매의 대조표본(Huikim8460)은 목포대학교 한약자원학과 김휘 교수에 의해 확인되었다. 블루베리(*Vaccinium ashei*)는 레빗아이종으로 2014년 8월 제주 조천 농가에서 재배한 것을 구매하였으며, 대조 표본(No. 2013/015)은 제주대학교 아열대·열대생물유전자은행센터 문정용 박사에 의해 확인되었다. 상동열매와 블루베리는 -70°C 에서 냉동 보관 하면서 추출시료로 사용하였다. 총 폴리페놀 함량, 총 안토시아닌 함량 및 항산화 활성 실험을 위한 추출물의 조제는 믹서기를 이용해 마쇄한 생시료 150 g에 80% 메탄올 3 L을 가하여 15분 동안 sonication을 3회 반복하여 추출한 뒤 whatman No. 2 여과지를 이용하여 여과하였다. 각 추출물은 rotary vacuum evaporator를 이용하여 30°C 에서 감압농축한 후, 냉동건조기(PVTFD10R, Ilsin, Korea)로 동결 건조하여 분말 상태로 만들어 메탄올 추출물을 얻었다. 건조된 메탄올 추출 시료 7 g에 증류수 1 L를 넣어 녹인 후, 극성의 정도에 따라 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 1 L를 이용하여 순차적으로 용매 분획하고 여과하였다. 각각의 분획물들을 rotary vacuum evaporator로 농축한 후, 냉동건조기로 동결 건조하여 분말상태로 만들어 -20°C 에서 보관하면서 각 실험에 사용하였다.

일반성분 분석

일반성분은 AOAC의 표준분석법(Horwitz 등, 1970) 및 식품공전(Food and Association 2005)에 준하여 측정하였다. 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분은 각각 105°C 상압건조법, Kjeldahl 법, 에테르 추출법 및 건식회화법으로 분석하였다. 탄수화물은 100%에서 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분 함량을 제외한 값으로 나타내었다. 유리당은 시료 1-2 g에 50% CAN 50 mL을 가하여 10분간 초음파 추출을 3회 반복하였다. 추출한 시료액은 Sep-Pak C18 cartridges (Waters, Milford, MA, USA)를 통과시킨 후, $0.45\ \mu\text{M}$ membrane filter (Woongki science co. Ltd., Seoul, Korea)로 여과하여 High performance liquid chromatography (HPLC, Water 2695)로 분석하였다. 유리당 분석 column은 Prevail Carbohydrate ES ($4.6\times 250\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$, Grace, Columbia, MD, USA)을 사용하였고 이동상으로는 증류수와 acetonitrile를 3:7로 혼합하여 사용하였으며 유속은 분당 0.8 mL였고, 검출기로는 Evaporative light scattering detector를 사용하였다. 함량은 농도별로 제조한 표준물질(Sigma Aldrich Co.)을 통해 HPLC로 분석하여 표준 검량선으로부터 유리당 함량을 계산하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 Cheung 등(2003)의 방법을 일부 수정하여 분석하였다. $125\ \mu\text{L}$ 의 시료에 DW $1,375\ \mu\text{L}$ 와 2 N Folin-Ciocalteu's 시약 0.5 mL을 넣고 3분 후, 10% sodium carbonate anhydrous 1 mL을 가한 다음 암소에서 30분 동안 반응시킨 후 분광광도계(Sunrise, Tecan, Salzburg, Austria)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 함량은 표준물질로 gallic acid를 이용하여 표준 검량선으로부터 시료의 총 폴리페놀 함량을 계산하였으며 gallic acid equivalents (mg GAE/g)로 나타내었다.

총 안토시아닌 함량

총 안토시아닌 함량은 pH differential method를 변형하여 측정하였다. 190 μ L의 pH 1.0 buffer (0.2 M KCl+0.2 M HCl)와 pH 4.5 buffer (0.2 M potassium phosphate+0.1 M citric acid)를 각각 10 μ L의 시료와 혼합한 후 15분간 정치한 후 분광광도계(Sunrise, Tecan)를 사용하여 520 nm와 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 함량은 cyanidin-3-rutinoside를 표준물질로 사용하였으며, $(A_{\lambda 520}-A_{\lambda 700})$ pH 1.0- $(A_{\lambda 520}-A_{\lambda 700})$ pH 4.5 값에 대하여 표준 검량선을 작성하였고 시료의 총 안토시아닌 함량을 cyanidin-3-rutinoside equivalents (mg CE/g)로 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거 활성 측정

ABTS 라디칼 소거 활성은 Re 등(1999)의 방법을 수정하여 측정하였다. ABTS 용액은 7 mM ABTS과 2.45 mM potassium persulphate를 혼합해 하루 동안 암소에 보관하여 ABTS 라디칼을 형성시켰으며, 분광광도계(UV1800 spectrophotometer, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 734 nm에서 흡광도 값이 0.700 ± 0.005 에 도달하도록 DW로 희석하였다. 희석된 용액 900 μ L에 시료 100 μ L를 혼합하여 실온에서 2분간 반응 시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 α -tocopherol을 사용하였다.

Electron spin resonance (ESR)을 이용한 DPPH 라디칼 소거 활성 측정

각 시료에 의한 DPPH 라디칼에 대한 환원력을 이용하여 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다(Nanjo 등, 1996). 30 μ L의 60 μ M DPPH와 농도별로 준비한 시료를 혼합한 다음 10초간 강하게 교반하여 2분동안 실온에서 반응시킨 후, capillary tube로 옮겨 JES-FA200 ESR spectrometer (JEOL, Tokyo, Japan)에서 측정하였다. 측정조건은 magnetic field 336.000 mT, power 5 mW, sweep time 30초, sweep width 10 mT, frequency 9.43 GHz, modulation width 0.8 mT, amplitude 500, time constant 0.03초 였다. 양성대조군으로 catechin을 사용하였다.

ESR을 이용한 Alkyl 라디칼 소거 활성 측정.

Alkyl 라디칼 소거 활성은 Hiramoto 등(1993)의 방법에 따라 ESR을 이용하여 측정하였다. Distilled water, 40 mM AAPH, 40 mM 4-POBN과 시료를 20 μ L씩 차례로 첨가하여 37°C 항온수조에서 30분간 반응시킨 후, capillary tube로 옮겨 ESR spectrometer (JES-FA200, JEOL)에서 측정하였다. 측정조건은 magnetic field 336.000 mT, power 7 mW, sweep time 30초, sweep width 10 mT, frequency 9.43 GHz, modulation width 0.2 mT, amplitude 500, time constant 0.03초 였다. 양성대조군으로 catechin을 사용하였다.

Gas chromatography-Mass spectrometer (GC-MS) 분석

기체크로마토그래피 분석은 Shimadzu GC-MS (QP-2010, Shimadzu Co.)을 사용하여 수행하였으며, GC column은 Rtx-5MS (30 m length, 0.25 μ m diameter, 0.25 μ m thickness)를 사용하였다. GC-MS의 분석조건은 오븐 온도는 100°C에서 1분간 유지하고 분당 10°C씩 승온하여 140°C에서 3분간 유지하였고, 다시 분당 4°C씩 승온하여 320°C에서 10분간 유지하며 분석

하였다. 운반 가스는 헬륨을 사용하여 total flow를 1 mL/min으로 분석을 진행하였고, 시료 주입 온도는 250°C, transfer 온도는 280°C로 설정하였으며, SCAN mode로 45-800 m/z 범위에서 분석하였다. 검출된 피크의 화합물 동정은 Willey 9 library database를 이용하여 library와 유사도가 80% 이상인 화합물만 동정하였으며, 동정된 화합물의 성분조성비는 피크의 intensity를 기준으로 전체 피크에서 각 피크가 차지하는 비율을 기반으로 산출하였다.

세포주 및 배양

실험에 사용된 인체 위암 세포주 AGS (human gastric adenocarcinoma)와 인체 유방암 세포주 MDA-MB-231 (human breast adenocarcinoma)은 한국세포주은행에서 분양 받았으며, 인간 유래의 정상 피부 세포인 human dermal fibroblast 세포는 제주대학교 의학전문대학원 조문제 교수로부터 분양 받아 사용하였다. AGS 세포는 F-12K, MDA-MB-231과 fibroblast 세포는 DMEM에 10% fetal bovine serum, 100 units/mL penicillin, 100 μ g/mL streptomycin을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

산화적 스트레스로부터의 세포 보호 활성 측정

H₂O₂에 의한 산화적 스트레스로부터의 세포 보호 활성은 MTT assay 방법을 이용하여 측정하였다(Carmichael 등, 1987). 세포를 4×10^3 cells/well의 농도로 96-well plate에 분주하고 16시간 동안 배양하여 세포를 완전히 부착시킨 후, 시료와 H₂O₂를 4시간 동안 동시 처리하였다. 배지를 제거한 다음 MTT 용액(5 mg/mL)을 첨가하여 4시간 동안 배양한 후, 생성된 formazan crystal을 DMSO로 용해해 분광광도계(Sunrise, Tecan)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

암세포 증식 억제 활성 측정

암세포주(AGS, MDA-MB-231)에 대한 상동열매와 블루베리 메탄올 추출물과 용매 분획물의 증식 억제 활성은 MTT assay 방법을 이용하여 측정하였다. 각 세포를 3×10^3 cells/well의 농도로 96-well plate에 분주하고 16시간 동안 배양하여 세포를 완전히 부착시킨 후, 시료를 48시간 처리하였다. 배지를 제거한 다음 MTT 용액(5 mg/mL)을 첨가하여 4시간 동안 배양한 후, 생성된 formazan crystal을 DMSO로 용해해 분광광도계(Sunrise, Tecan)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 시행하였으며, 평균치와 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증은 SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 t-test와 ANOVA one way를 시행하였다. 모든 통계적인 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 실시하였다.

결과 및 고찰

일반성분 및 유리당 함량

상동열매와 블루베리의 일반성분을 비교 분석한 결과, Table 1에 나타난 바와 같이 상동열매의 수분 함량은 $80.13 \pm 2.08\%$, 블루베리의 수분 함량은 $88.17 \pm 1.46\%$ 로 측정되었다. 조단백질은

Table 1 Proximate composition of *S. thea* and *V. ashei* fruit

	<i>S. thea</i>	<i>V. ashei</i>
Moisture (%)	80.13±2.08 ¹⁾	88.17±1.46 ²⁾
Crude protein (%)	2.03±0.51	1.07±0.12
Crude fat (%)	0.10±0.00	0.10±0.00
Crude ash (%)	0.50±0.10*	0.20±0.00
Carbohydrate (%)	17.30±1.74*	10.57±1.21
Calories (kcal/ 100g)	77.93±8.03*	46.97±5.68

¹⁾Means indicated significant difference in comparing with *S. thea* versus *V. ashei* at **p* < 0.05

²⁾Values are mean±SD (n=3)

상동열매가 2.03±0.51%로 블루베리 1.07±0.12%에 비해 높게 나타났으며, 조지방은 상동열매와 블루베리 모두 동일한 값 (0.10±0.00%)로 나타났다. 조회분의 경우에는 상동열매가 0.50±0.10%, 블루베리가 0.20±0.00%로 상동열매가 블루베리에 비해 조회분 함량이 2.5배 높았으며, 탄수화물에서도 상동열매가 17.30±1.74%, 블루베리가 10.57±1.21%으로 상동열매가 높은 함량을 보였다. 열량은 상동열매가 77.93±8.03 kcal/100 g으로 블루베리의 열량 46.97±5.68 kcal/100 g보다 1.7배 정도 높게 나타났다. Hyun 등(2015)은 상동열매의 수분 함량, 조단백질, 조지방 및 조회분 함량을 각각 75.04±0.01, 2.01±0.48, 0.84±0.02 및 0.48±0.03%로 보고한 바 있다. 이들 결과를 본 연구 결과와 비교했을 때 수분 함량과 조지방 함량에서 다소 차이가 있었으나 이는 수확시기의 차이에 기인한 것으로 사료되며, 대체적으로 유사한 경향을 보였다. 따라서, 상동열매의 일반성분은 블루베리에 비하여 수분함량이 적은 반면, 열량, 조단백, 조회분, 탄수화물의 함량은 더 높음을 확인하였다.

블루베리 외에 상동열매와 비슷한 베리류에 속하는 블랙베리, 라즈베리, 딸기 및 체리의 일반성분을 비교한 연구 결과와 비교했을 때(de Souza et al. 2014), 상동열매의 수분함량은 블랙베리, 라즈베리, 딸기 및 체리(86.43-92.68%)보다 낮았고, 조단백질은 상동열매가 블랙베리(1.27±0.06%), 라즈베리(1.00±0.08%), 딸기(0.50±0.02%) 및 체리(1.00±0.05%)보다 높은 함량을 보였다. 한편, 조지방은 블랙베리(0.42±0.05%), 라즈베리(0.28±0.02%), 딸기(0.25±0.02%) 및 체리(0.20±0.01%)보다 낮았지만, 조회분 함량은 블랙베리(0.21±0.02%), 라즈베리(0.25±0.00%), 딸기(0.27±0.01%) 및 체리(0.42±0.01%)보다 상동열매의 함량이 높았다. 탄수화물의 경우 블랙베리, 라즈베리, 딸기 및 체리가 각각 10.18±0.61, 9.88±0.11, 6.30±0.13, 11.94±0.28%로 상동열매가 이들에 비해 높은 함량을 나타냈다. 열량은 상동열매가 블랙베리(49.57±2.18 kcal/100 g), 라즈베리(46.00±0.85 kcal/100 g), 딸기(29.40±0.75 kcal/100 g) 및 체리(53.59±1.22 kcal/100 g)에 비해 0.69-2.65배 높았다. 이들 결과를 종합해 볼 때 다른 베리류들에 비해 상동열매의 조단백, 조회분 및 탄수화물 함량이 상대적으로 높았으며 열량 또한 높은 것으로 확인되었다.

상동열매와 블루베리의 유리당 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 총 당은 상동열매가 9.85±0.56%로 블루베리(5.33±0.80%)보다 약 2배 정도 높은 것으로 확인되었다. 상동열매에서는 fructose, glucose 및 maltose가 검출되었으며, 각각 4.16±0.23, 3.85±0.21, 1.84±0.19%를 함유하고 있는 것으로 분석되었

Table 2 Free sugar contents of *S. thea* and *V. ashei* fruit

Free sugar (g/100 g)	<i>S. thea</i>	<i>V. ashei</i>
Fructose	4.16±0.23 ¹⁾	2.82±0.67 ²⁾
Glucose	3.85±0.21*	2.52±0.14
Sucrose	ND ³⁾	ND
Maltose	1.84±0.19*	ND
Total	9.85±0.56	5.33±0.80

¹⁾Means indicated significant difference in comparing with *S. thea* versus *V. ashei* at **p* < 0.05

²⁾Values are mean±SD (n=3)

³⁾ND: Not detected

Table 3 Total polyphenol contents of the methanol extract and stepwise partitioned solvent fractions from *S. thea* and *V. ashei* fruit

Total polyphenol (mg GAE ¹⁾ /g)	<i>S. thea</i>	<i>V. ashei</i>
Methanol extract	6.30±0.83 ²⁾	2.85±1.20 ³⁾
<i>n</i> -Hexane fraction	6.42±1.95	7.18±2.96
Chloroform fraction	8.80±2.72	11.01±1.08
Ethyl acetate fraction	25.42±1.10*	31.25±0.95
<i>n</i> -Butanol fraction	16.35±2.03	14.75±1.15
Water fraction	4.19±0.40*	1.13±0.09

¹⁾GAE: gallic acid equivalents

²⁾Means indicated significant difference in comparing with *S. thea* versus *V. ashei* at **p* < 0.05

³⁾Values are mean±SD (n=3)

고 sucrose는 검출되지 않았다. 블루베리의 유리당은 fructose가 2.82±0.67%, glucose가 2.52±0.14%로 분석되었으며, sucrose와 maltose는 검출되지 않았다. Cho 등(2010)은 lowbush 블루베리와 highbush 블루베리의 fructose와 glucose함량을 각각 2.61-2.81%와 2.89-2.99%로 보고한 바 있는데, 이는 본 연구에서의 블루베리의 유리당 함량과 유사한 것으로 확인되었다. 이상의 결과에서 나타난 바와 같이 상동열매는 블루베리보다 유리당 함량이 높아, 식품 제조 소재로서 활용가치가 높을 것으로 사료된다.

총 폴리페놀 함량

식물계에 널리 존재하는 phytochemical 중 폴리페놀 화합물은 phenolic hydroxyl (-OH) 기를 가지고 있어 이를 통해 인체에 유해한 활성산소를 제거하는 기능이 있는 것으로 알려져 있다(Sato 등, 1996; Amarowicz 등, 2004). 이러한 폴리페놀 화합물은 phenolic acid, flavonoid, anthocyanin, cinnamic acid, benzoic acid등이 있으며(Naczka와 Shahidi 2003), 각종 질병의 예방 및 치료에 효과가 있기 때문에 폴리페놀 함량이 높은 식물은 건강보조식품 재료로 각광 받고 있다(Jang와 Yoon 2012). 본 연구에서는 상동열매와 블루베리의총 폴리페놀 함량을 비교 측정하기 위하여 각각 80% 메탄올로 추출한 후, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물층으로 용매 분획 후 실험에 사용하였다. Table 3에 나타난 바와 같이 상동열매 메탄올 추출물의 폴리페놀 함량은 6.30±0.83 mg GAE/g로 블루베리의 추출물(2.85±1.20 mg GAE/g)에 비해 유의적으로(*p* < 0.05) 높게 나타났다. 상동열매와 블루베리 용매 분획물의 총 폴리페놀 함량은 에틸아세테이트 분획물이 각각 25.42±1.10 mg GAE/g 및

Table 4 Total anthocyanin contents of the methanol extract and stepwise partitioned solvent fractions from *S. thea* and *V. ashei* fruit

Total anthocyanin (mg CE ¹⁾ /g)	<i>S. thea</i>	<i>V. ashei</i>
Methanol extract	37.34±4.34 ²⁾	15.56±2.67 ³⁾
<i>n</i> -Hexane fraction	ND ⁴⁾	51.66±11.46
Chloroform fraction	13.98±1.95*	95.06±17.38
Ethyl acetate fraction	ND	ND
<i>n</i> -Butanol fraction	163.2±33.38*	104.31±21.74
Water fraction	4.57±2.57	ND

¹⁾CE: cyanidin-3-rutinoside equivalents²⁾Means indicated significant difference in comparing with *S. thea* versus *V. ashei* at **p* < 0.05³⁾Values are mean±SD (n=3)⁴⁾ND: Not detected

31.25±0.95 mg GAE/g로 용매 분획물들 중 가장 높았으며, 다음으로 부탄올 분획물(16.35±2.03, 14.75±1.15 mg GAE/g), 클로로포름 분획물(8.80±2.72, 11.01±1.08 mg GAE/g), 헥산 분획물(6.42±1.95, 7.18±2.96 mg GAE/g), 물 분획물(4.19±0.40, 1.13±0.09 mg GAE/g) 순으로 나타났다. Lee 등(2015)의 연구에서 5% formic acid를 함유한 50% 메탄올로 추출한 블랙라즈베리와 라즈베리의 폴리페놀 함량이 5.47 mg GAE/g와 1.98 mg GAE/g로 보고된 바 있으며, de Souza 등(2014)의 연구에서는 메탄올과 아세톤으로 추출한 블랙베리와 라즈베리, 딸기 및 체리의 총 폴리페놀 함량이 각각 8.81±4.77, 3.58±7.06, 6.22±15.51, 3.14±5.95 mg GAE/g로 보고된 것과 비교했을 때 상동열매 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 다른 베리류 추출물 보다 비교적 높은 것을 확인할 수 있었다.

총 안토시아닌 함량

베리류를 포함한 여러 식물에 함유되어 있는 안토시아닌은 적색, 자색 및 청색을 나타내는 flavonoid 색소이다(Francis 1989; Bridle와 Timberlake 1997). 안토시아닌의 phenolic 구조는 ROS (reactive oxygen species)를 소거함으로써 항산화 활성을 나타낸다고 알려져 있다(Wang와 Jiao 2000; Jang 등, 2014). 이에 따라 상동열매와 블루베리의 총 안토시아닌 함량을 cyanidin-3-rutinoside을 기준으로 측정한 결과, Table 4와 같이 상동열매 메탄올 추출물의 안토시아닌 함량은 37.34±4.34 mg CE/g로 블루베리 추출물의 15.56±2.67 mg CE/g 보다 유의적으로(*p* < 0.05) 높은 함량을 보였다. 상동열매의 용매 분획물에 대한 안토시아닌 함량은 부탄올 분획물에서 163.20±33.38 mg CE/g로 가장 높았고, 그 다음으로는 클로로포름 분획물이 13.98±1.95 mg CE/g, 물 분획물이 4.57±2.57 mg CE/g으로 나타났으며, 헥산 분획물과 에틸아세테이트 분획물에서는 검출되지 않았다. 블루베리의 경우 부탄올 분획물에서 104.31±21.74 mg CE/g로 용매 분획물들 중에서 가장 함량이 높았고, 클로로포름 분획물 95.06±17.38 mg CE/g, 헥산 분획물 51.66±11.46 mg CE/g의 순으로 나타내었으며, 에틸아세테이트 분획물과 물 분획물에서는 검출되지 않았다. 따라서, 총 폴리페놀 함량과 더불어 항산화 효능을 지닌 안토시아닌을 블루베리에 비해 많이 함유하고 있어, 상동열매는 천연 항산화제로서 이용 가치가 높을 것으로 예상된다.

Fig. 1 DPPH radical scavenging activities of the methanol extract and stepwise partitioned solvent fractions from *S. thea* and *V. ashei* fruit. ME: 80% methanol extract, HF: *n*-hexane fraction, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: *n*-butanol fraction, WF: water fraction. Catechin was used as positive control. Values are mean±SD (n=3). Means indicated significant difference in comparing with *S. thea* versus *V. ashei* at **p* < 0.05

자유라디칼 소거 활성

생체 내에서 과도하게 발생한 자유라디칼은 DNA, 단백질, 세포 분자들의 산화적 손상을 유발하여 다양한 질병을 일으키는 원인으로 작용하는데, 항산화제는 이러한 산화적 손상으로부터 신체를 방어하는 역할을 한다(Ames 등, 1993). DPPH 라디칼은 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되는 비교적 안정한 자유라디칼로, 다양한 천연물의 항산화 활성을 탐색하는데 많이 이용되고 있다(Lee 등, 2005). 메탄올 추출물과 용매 분획물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 비교한 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 메탄올 추출물 25 µg/mL의 농도에서 상동열매 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 22.18±5.96%로 블루베리 메탄올 추출물 9.62±2.96%에 비해 유의적으로 높게 나타났다(*p* < 0.05). 용매 분획물들 간의 DPPH 자유라디칼 소거 활성은 상동열매와 블루베리가 유사한 경향을 보였으며, 에틸아세테이트 분획물의 소거능이 각각 70.09±6.96% 및 83.47±6.15%로 가장 높은 DPPH 자유라디칼 소거 활성을 나타냈다. 그 다음으로 부탄올 분획물이 68.65±3.39% 및 57.05±5.17%, 클로로포름 분획물이 26.85±6.45% 및 54.50±6.84%, 헥산 분획물이 16.52±5.02% 및 20.65±3.73%, 물 분획물이 16.05±7.03% 및 6.79±1.24%의 순으로 나타났다.

Alkyl 라디칼은 hydrocarbon reaction에서 초기 반응 생성물로 지질 과산화에 관여하기 때문에 alkyl 라디칼 소거 활성을 통해 항산화 효능을 확인 할 수 있다(Hyon 등, 2009). Alkyl 라디칼 소거 활성은 DPPH 라디칼 소거 활성과 비슷한 경향을 보였으며, 메탄올 추출물의 Alkyl 라디칼 소거 활성은 40 µg/mL의 농도에서 상동열매가 11.96±5.21%, 블루베리가 12.11±4.79%로 나타났다(Fig. 2). 80 µg/mL의 농도에서는 상동열매가 19.55±9.55%, 블루베리가 15.45±9.77%로 상동열매가 약간 높았으나 유의적인 차이는 없었다. 상동열매와 블루베리 용매 분획물의 alkyl 라디칼 소거 활성은 40 µg/mL의 농도에서 에틸아

Fig. 2 Alkyl radical scavenging activities of the methanol extract and stepwise partitioned solvent fractions from *S. thea* and *V. ashei* fruit. ME: 80% methanol extract, HF: *n*-hexane fraction, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: *n*-butanol fraction, WF: water fraction. Catechin was used as positive control. Values are mean $\pm$ SD (n=3). Means indicated significant difference in comparing with *S. thea* versus *V. ashei* at * p < 0.05

Fig. 3 ABTS radical scavenging activities of the methanol extract and stepwise partitioned solvent fractions from *S. thea* and *V. ashei* fruit. ME: 80% methanol extract, HF: *n*-hexane fraction, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: *n*-butanol fraction, WF: water fraction. α -tocopherol was used as positive control. Values are mean $\pm$ SD (n=3). *Means indicated significant difference in comparing with *S. thea* versus *V. ashei* at * p < 0.05

세테이트 분획물이 67.16 $\pm$ 6.41% 및 77.08 $\pm$ 0.75%, 부탄올 분획물이 50.73 $\pm$ 7.89% 및 46.12 $\pm$ 3.96%, 클로로포름 분획물이 7.59 $\pm$ 2.48% 및 30.43 $\pm$ 7.48%, 헥산 분획물이 8.86 $\pm$ 6.13% 및 19.64 $\pm$ 8.25%, 물 분획물이 8.26 $\pm$ 2.98% 및 10.25 $\pm$ 0.25% 순으로 나타났다.

ABTS 라디칼 소거 활성은 단시간에 측정할 수 있고, 친수성 뿐만 아니라 소수성 물질의 항산화 활성도 측정할 수 있기 때문에 많이 사용되고 있는 방법이다(Awika 등, 2003). 상동열매와 블루베리 메탄올 추출물과 용매 분획물의 ABTS 라디칼 소거 활성은 Fig. 3에 나타난 바와 같이 메탄올 추출물 200 µg/mL 농도에서 상동열매 메탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성은 34.14 $\pm$ 1.67%로 블루베리 메탄올 추출물 ABTS 라디칼 소거 활성 21.70 $\pm$ 1.63% 보다 유의적으로 (p < 0.05) 높게 나타났다. 상동열매의 용매 분획물 중에서는 부탄올 분획물이 91.73 $\pm$ 1.72%로 가장 높은 ABTS 라디칼 소거 활성을 보였으며, 그 다음으로 에틸아세테이트 분획물 61.55 $\pm$ 3.11%, 클로로포름 분획물 38.73 $\pm$ 2.28%, 헥산 분획물 17.97 $\pm$ 2.07%, 물 분획물 15.83 $\pm$ 0.53% 순으로 나타났다. 블루베리 용매 분획물의 ABTS 라디칼 소거 활성은 에틸아세테이트 분획물이 89.61 $\pm$ 2.74%로 가장 높은 활성을 나타냈으며, 그 다음으로는 부탄올 분획물 75.47 $\pm$ 7.44%, 클로로포름 분획물 60.84 $\pm$ 3.50%, 헥산 분획물 35.54 $\pm$ 1.44%, 물 분획물 4.29 $\pm$ 1.06% 순으로 나타났다. 상동열매 용매 분획물들 간 ABTS 라디칼 소거 활성 정도를 비교했을 때 DPPH 및 alkyl 라디칼 소거 활성과는 다소 다른 경향을 보였다. 이는 자유라디칼인 DPPH와 양이온 라디칼인 ABTS에 결합하는 폴리페놀 화합물의 종류가 다르기 때문에 분획물 종류에 따른 라디칼 소거 활성 능력의 차이가 발생할 수 있을 것으로 사료된다(Wang 등, 1998). 또한 ABTS 라디칼 소거 활성은 친수성 및 색소 물질을 함유하는 식물성 식품의 항산화 활성을 측정하는데 적합하며 넓은 범위의 pH에서도 적용될 수 있는 방

법이므로(Lemańska 등, 2001; Floegel 등, 2011), 상동열매 부탄올 분획물의 경우 에틸아세테이트 분획물에 비해 폴리페놀 함량은 낮지만 안토시아닌 함량이 높고, 안토시아닌은 낮은 pH에서 안정하기 때문에 DPPH 및 alkyl 라디칼 소거 활성 측정 시보다 ABTS 소거 활성 측정 시 부탄올 분획물이 상대적으로 더 우수한 활성을 나타내는 것으로 사료된다(Abdel-Aal와 Hucl 2003).

산화적 스트레스로부터의 세포 보호 활성

Human dermal fibroblast 세포의 증식에 미치는 영향을 확인하기 위해 상동열매와 블루베리 메탄올 추출물 및 용매 분획물을 각각 100 µg/mL 처리 하고 MTT assay를 수행한 결과, 메탄올 추출물과 대부분의 용매 분획물 처리에 의한 세포 생존율은 92.92–103.52%로 세포 독성이 거의 관찰되지 않았다(Fig 4A). 한편, 헥산 분획물의 경우에는 상동열매의 세포 생존율이 92.44 $\pm$ 4.00%, 블루베리의 세포 생존율이 61.08 $\pm$ 7.42%로 블루베리 헥산 분획물에서 세포 독성이 확인되었다. 블루베리의 헥산 분획물을 제외한 모든 용매 분획물들과 메탄올 추출물에 의한 세포 독성이 관찰되지 않음에 따라, H₂O₂로 유도된 산화적 스트레스에 대한 세포 보호 효과를 측정하였다(Fig. 4B). Fibroblast 세포에 200 µM 농도의 H₂O₂를 처리한 결과 세포 생존율이 49.52 $\pm$ 4.11%로 감소하는 것을 확인하였으며, 상동열매와 블루베리 메탄올 추출물 100 µg/mL 각각을 200 µM 농도의 H₂O₂와 함께 동시 처리했을 경우에는 세포 생존율이 64.64 $\pm$ 8.98% 및 63.53 $\pm$ 8.83%로, H₂O₂ 단독 처리에 비해 15.11 및 14.01%의 세포 보호 효과를 확인하였다(p < 0.05). 에틸아세테이트 분획물과 H₂O₂를 동시 처리한 경우에는 상동열매와 블루베리가 각각 58.41 $\pm$ 6.99와 56.07 $\pm$ 8.15%의 세포 생존율을 나타내어 각각 8.89와 6.54%의 세포 보호 효과를 확인하였다. 부탄올 분획물

Fig. 4 Protective effects of the methanol extract and stepwise partitioned solvent fractions from *S. thea* and *V. ashei* fruit on H₂O₂-induced cytotoxicity. (A) Dermal fibroblast cells were treated for 4 h with indicated samples. (B) Dermal fibroblast cells were co-treated for 4 h with indicated samples and H₂O₂ (200 μM). ME: 80% methanol extract, HF: *n*-hexane fraction, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: *n*-butanol fraction, WF: water fraction. Values are mean±SD (n=3). Means indicated significant difference in comparing with *S. thea* versus *V. ashei* at **p*<0.05 and in comparing H₂O₂ at #*p*<0.05

의 세포 생존율은 상동열매와 블루베리가 각각 54.34 ± 8.60 와 $53.74 \pm 5.27\%$ 로 나타나 세포 보호 효과가 미미함을 확인하였다. 물 분획물에서는 세포 보호 효과가 없었으며, 헥산 분획물과 클로로포름 분획물에서는 오히려 세포 생존율이 감소하였다. 따라서, H₂O₂로 유도된 산화적 스트레스로부터 세포 보호 효과는 그 차이가 크지 않지만 상동열매가 블루베리보다 우수한 것으로 나타났으며, 특히 메탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획물이 상대적으로 다른 분획물에 비해 우수한 세포 보호 효과를 보였다.

암세포 증식 억제 활성

암세포의 증식에 미치는 영향을 확인하기 위해 AGS와 MDA-MB-231 세포에 상동열매와 블루베리 메탄올 추출물과 용매 분획물을 48시간동안 처리한 후 MTT assay를 실시하였다. Fig. 5에서 나타난 바와 같이, 상동열매와 블루베리의 헥산 분획물과 클로로포름 분획물에서 AGS와 MDA-MB-231 암세포에 대해 증식 억제 활성이 나타났다. 인체 위암세포주인 AGS의 경우, 200 μg/mL 상동열매 헥산 분획물이 $75.08 \pm 1.78\%$, 클로로포름

Fig. 5 Effects of the methanol extract and stepwise partitioned solvent fractions from *S. thea* and *V. ashei* fruit on the viability of AGS and MDA-MB-231 cells. Cell viabilities were determined for 48 h with indicated concentrations of methanol extracts and its fractions in AGS (A) and MDA-MB-231 cells (B). Each value is expressed as mean±SD (n=3)

분획물이 $78.77 \pm 6.15\%$ 의 세포생존율을 나타냈으며, 블루베리 헥산 분획물은 $89.12 \pm 3.98\%$, 클로로포름 분획물은 $57.77 \pm 1.05\%$ 의 세포생존율을 나타냈다(Fig. 5A). 인체 유방암 세포주 MDA-MB-231에서는 상동열매 헥산 분획물이 $70.35 \pm 3.51\%$, 클로로포름 분획물이 $75.04 \pm 7.96\%$ 의 세포생존율을 나타냈으며, 에틸아세테이트 분획물의 경우에도 $35.42 \pm 2.44\%$ 의 세포생존율이 나타났다. 이에 비해 블루베리의 헥산 분획물은 $36.50 \pm 1.60\%$, 클로로포름 분획물은 $8.54 \pm 1.25\%$, 에틸아세테이트 분획물은 $48.34 \pm 4.91\%$ 의 MDA-MB-231 세포생존율을 나타냈다(Fig. 5B). Adams 등(2010)은 블루베리 메탄올 추출물이 MDA-MB-231 세포에서 PI3K/Akt pathway의 감소와 NF-κB의 활성화를 통해 apoptosis를 유발한다고 보고하였으며, Pan 등(2007)은 블루베리 활성 성분 중 pterostilbene이 AGS 세포에서 p53 발현의 증가를 통한 cell cycle arrest와 apoptosis 유도에 대해 보고한 바 있다. 따라서, 상동열매에 의한 암세포의 apoptosis 유발 가능성에 대해서도 연구가 필요하며 이를 통해 위암과 유방암을 타겟하는 항암식품 소재 개발에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

Čechovská 등, 2011; Yu 등, 2013). 용매 분획물들 중에서는 폴리페놀 함량과 자유라디칼 소거 활성이 우수했던 에틸아세테이트 분획물과 부탄올 분획물에서 다른 분획물들에 비해 다양한 종류의 항산화 활성을 가지는 성분들이 검출되었다. 상동열매 에틸아세테이트 분획물에서는 항산화 활성이 보고된 3,5-dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one (4.51%), benzoic acid (1.07%), catechol (7.31%), salicylic acid (1.61%), syringol (2.48%) 및 pyrogallol (8.05%)가, 부탄올 분획물에서는 3,5-

Table 5 Compounds identified of the methanol extract and stepwise partitioned solvent fractions from *S. thea* and *V. ashei* fruit by GC-MS

No	RT ¹⁾ (min)	Compound ²⁾	Area ³⁾ (%)											
			<i>S. thea</i>						<i>V. ashei</i>					
			ME ⁴⁾	HF	CF	EF	BF	WF	ME	HF	CF	EF	BF	WF
1	5.043	N,N-Bis(2-ethylbutyl)amine	-	-	-	-	-	1.11	-	-	-	-	-	-
2	5.046	4,5-Dimethyl-1,3-dioxol-2-one	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.53
3	5.278	Furaneol	4.69	-	-	-	5.95	3.65	3.42	-	-	-	-	5.82
4	5.721	Thymine	-	-	-	1.75	15.98	16.87	-	-	-	-	11.66	20.91
5	5.765	Mono-methyl succinate	-	-	1.04	16.74	-	-	-	-	-	1.55	-	-
6	5.766	4a,4b-Dimethylhexahydropyrimido[5',4':3,4]cyclobuta [1,2-d]pyrimidine-2,4,5,7(3H,6H)-tetrone	24.08	-	-	-	-	-	19.99	-	-	-	-	-
7	5.885	Guaiacol	-	-	-	0.69	-	-	-	-	-	0.81	-	-
8	6.236	Dimethyl malate	-	-	8.91	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	6.922	N-Nitrosodiethylamine	5.13	-	-	-	5.56	5.63	4.63	-	-	-	-	7.98
10	7.126	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one	32.75	-	-	4.51	37.71	31.02	27.44	-	-	-	56.26	41.96
11	7.475	Benzoic acid, ammonium salt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.98	-
12	7.495	Benzoic acid	-	-	-	1.07	-	-	-	-	-	4.75	-	-
13	7.985	5-Hydroxymaltol	-	-	-	-	-	3.40	4.04	-	-	2.34	9.40	-
14	8.100	5,5-Dimethyl-2,4-hexanedione	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.86
15	8.304	Catechol	2.73	-	-	7.31	2.57	2.33	2.17	-	-	9.11	6.19	3.24
16	8.753	4-Methylbenzaldehyde	-	-	-	16.12	-	-	-	-	-	7.86	-	-
17	8.972	Dimethyl 2-oxopentanedioate	-	-	-	16.30	-	-	-	-	-	-	-	-
18	9.071	1-Ethyl-2-hydroxymethylimidazole	20.99	-	-	-	28.72	34.60	33.27	-	-	-	-	-
19	9.092	5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.68
20	9.776	Dimethyl 2-propoxysuccinate	-	-	-	2.65	3.51	-	-	-	-	-	-	-
21	10.015	3-Methoxycatechol	-	-	-	2.90	-	-	-	-	-	6.32	-	-
22	10.063	2-Methoxyhydroquinone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.58	-
23	11.270	Salicylic acid	-	-	-	1.61	-	-	-	-	-	-	-	-
24	11.322	2-Methoxy-4-vinylphenol	-	-	-	5.52	-	-	-	-	18.29	16.48	-	-
25	12.401	Syringol	-	-	-	2.48	-	-	-	-	21.94	11.90	2.63	-
26	12.775	Linalool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.66	-	-
27	13.730	Pyrogallol	-	-	-	8.05	-	-	-	-	-	-	-	-
28	15.215	2-Hydroxy-6-methylbenzaldehyde	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.29	-	-
29	15.964	Trimethyl citrate	-	-	-	0.50	-	-	-	-	-	-	-	-
30	17.281	2,6-Di-tert-butylphenol	-	-	-	-	-	1.39	-	-	-	-	-	2.02
31	18.894	3,4-Dimethoxyacetophenone	-	-	3.91	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	19.081	Vanillic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.72	-	-
33	21.017	5-Methyl[1,5]thiazocane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.30	-
34	21.725	Syringaldehyde	-	-	-	-	-	-	-	-	3.00	-	-	-
35	24.782	Methyl syringate	-	-	-	-	-	-	-	-	13.53	2.31	-	-
36	25.286	Pluchidiol	-	-	-	-	-	-	-	-	3.89	1.19	-	-
37	26.189	Syringic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.88	-	-
38	28.229	Zierone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.91	-	-
39	28.739	Methyl palmitate	-	10.54	11.00	1.24	-	-	-	3.48	1.25	-	-	-
40	28.901	1,4-Diaza-2,5-dioxo-3-isobutyl bicyclo[4.3.0]nonane	-	-	1.35	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 5 Compounds identified of the methanol extract and stepwise partitioned solvent fractions from *S. thea* and *V. ashei* fruit by GC-MS

No	RT ¹⁾ (min)	Compound ²⁾	Area ³⁾ (%)											
			<i>S. thea</i>						<i>V. ashei</i>					
			ME ⁴⁾	HF	CF	EF	BF	WF	ME	HF	CF	EF	BF	WF
41	29.638	Palmitic acid	-	-	-	-	-	-	1.70	-	-	-	-	-
42	29.742	Methyl glycol phthalate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.92	-	-
43	31.254	Methyl heptadecanoate	-	0.27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	31.753	Methyl 2-hydroxyhexadecanoate	-	1.04	1.85	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	32.910	Methyl linoleate	-	22.58	24.21	2.02	-	-	-	9.99	2.52	-	-	-
46	32.915	methyl octadeca-8,11-dienoate	-	-	-	-	-	-	1.42	-	-	-	-	-
47	33.070	Methyl linolenate	-	23.26	27.77	2.55	-	-	0.98	7.61	-	-	-	-
48	33.178	Methyl oleate	-	0.78	-	-	-	-	-	0.52	-	-	-	-
49	33.345	Phytol	-	1.91	1.39	-	-	-	-	0.92	-	-	-	-
50	33.646	Methyl stearate	-	4.24	3.08	-	-	-	-	0.82	-	-	-	-
51	33.817	Ethyl linoleate	-	5.00	-	-	-	-	0.94	0.99	-	-	-	-
52	38.152	Methyl eicosanoate	-	0.71	-	-	-	-	-	0.58	-	-	-	-
53	41.547	Octadecan-1-ol	-	0.54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	41.942	2-Palmitoylglycerol	-	1.89	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	42.465	N-(2,6-Dimethylphenyl)-2-(4-morpholinyl)-2-phenyl-N-(phenylacetyl)acetamide	-	-	-	-	-	-	-	-	3.47	-	-	-
56	42.745	Mono(2-ethylhexyl)phthalate	-	-	-	-	-	-	-	0.76	-	-	-	-
57	42.751	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	-	-	0.49	-	-	-	-	-	1.94	-	-	-
58	42.769	Diethyl phthalate	-	-	-	5.99	-	-	-	-	-	-	-	-
59	45.440	1-Monolinolein	-	9.93	2.34	-	-	-	-	1.51	-	-	-	-
60	48.006	Squalene	-	-	-	-	-	-	-	1.73	-	-	-	-
61	51.984	β -Tocopherol	-	0.82	-	-	-	-	-	2.01	-	-	-	-
62	56.525	β -Sitosterol	-	16.49	12.66	-	-	-	-	35.83	19.50	-	-	-
63	57.265	Methyl commate D	9.63	-	-	-	-	-	-	11.79	10.67	-	-	-
64	58.114	Methyl commate B	-	-	-	-	-	-	-	21.46	-	-	-	-
Total			100	100	100	100	100	100	100	10	100	100	100	100

¹⁾Retention time²⁾Compounds were tentatively identified based on parent molecular ions, retention times, retention indices, and elution order, as well as the fragmentation spectra compared with the literature³⁾Peak area relative to total peak area%⁴⁾ME: 80% methanol extract, HF: *n*-hexane fraction, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: *n*-butanol fraction, WF: water fraction

dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one (37.71%)와 catechol (2.57%)이 확인되었다(Loo 등, 2008; Velika와 Kron, 2012; Wang 등, 2015; Ozturk Sarikaya 2015). 블루베리 에틸아세테이트 분획물에서 검출된 화합물들 중에서는 benzoic acid (4.75%), catechol (9.11%), syringol (11.90%), linalool (1.66%), vanillic acid (6.72%), methyl syringate (2.31%) 및 syringic acid (7.88%)가, 부탄올 분획물에서는 3,5-dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one (56.26%), catechol (6.19%) 및 syringol (2.63%)가 항산화 활성을 나타내는 것으로 보고된 바 있다(Kumar 등, 2011; Jubri 등, 2013; Cikman 등, 2015; Seol 등, 2016). 한편, 폴리페놀과 안토시아닌의 함량과 자유라디칼 소거 활성이 상대적으로 높지 않았지만 세포 보호 효과가 높았던 메탄올 추출물에서는 4a,4b-dimethylhexahydropyrimido [5',4':3,4]cyclobuta[1,2-d]pyrimidine-2,4,5,7(3H,6H)-tetrone가 상동열매와 블루베리에 각각 24.08 및 19.99%로 상대적으로 함량이 높게 나타났다. 이 화합물은 다른 용매 분획물에서는 검출되지 않는 것으로 확인된 바 메탄올 추출물의 H₂O₂로 유도된 산화적 스트레스에 대한 세포 보호 효과에 기여할 수 있을 것

으로 판단되며, 자유라디칼 소거 활성과 세포 보호 효과에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다. 위암과 유방암 세포의 증식 억제 활성이 있었던 헥산 분획물과 클로로포름 분획물의 경우 다양한 암세포에 대한 항암활성을 가지는 것으로 알려진 β -sitosterol이 상동열매 헥산 분획물과 클로로포름 분획물에서 각각 16.49와 35.83%, 블루베리 헥산 분획물과 클로로포름 분획물에서는 각각 12.66와 19.50%로 확인되었으며(Bin Sayeed와 Ameen 2015), 다른 분획물에서는 검출되지 않았다. 이러한 결과들을 토대로 상동열매는 천연 항산화 및 항암 소재로서의 활용가치가 증대될 것으로 사료된다.

초 록

본 연구에서는 블루베리의 형태 및 풍미와 유사한 상동열매의 일반성분과 항산화 활성을 비교하였다. 열량, 조단백, 조지방, 탄수화물 및 유리당은 상동열매가 블루베리에 비해 더 높았으며 수분은 블루베리가 더 높은 것으로 나타났다. 상동열매의 주

요 유리당은 fructose, glucose 및 maltose로 나타난 반면, 블루베리에서는 maltose가 검출되지 않았다. 상동열매와 블루베리를 각각 80% 메탄올로 추출한 후, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물층으로 용매 분획하여 이들의 폴리페놀 및 안토시아닌 함량과 항산화 활성을 비교하였다. 상동열매 메탄올 추출물이 블루베리 메탄올 추출물보다 폴리페놀 함량과 안토시아닌 함량 모두 높게 나타났으며, 아울러 DPPH, alkyl, 및 ABTS 라디칼 소거 활성 또한 더 우수하였다. 용매 분획물들을 대상으로 항산화 효능을 비교했을 때, 상동열매와 블루베리 모두 폴리페놀 함량이 상대적으로 높았던 에틸아세테이트 분획물의 DPPH와 alkyl radical 소거 활성이 가장 우수했으며, 안토시아닌 함량이 높은 부탄올 분획물의 ABTS radical 소거 활성이 상대적으로 우수하였다. 특히, 안토시아닌 함량이 상대적으로 높았던 상동열매 부탄올 분획물의 ABTS 라디칼 소거 활성은 블루베리 부탄올 분획물에 비해 상대적으로 우수하였다. 상동열매와 블루베리 메탄올 추출물은 피부세포에서의 H_2O_2 로 유도된 산화적 스트레스로부터 세포 보호 효과를 나타냈으며, 블루베리와 비교하여 상동열매에서 그 효능이 더 우수한 것으로 나타났다. 또한 상동열매와 블루베리의 헥산 분획물과 클로로포름 분획물이 위암(AGS)과 유방암(MDA-MB-231)세포에 대한 증식 억제 활성이 확인되었다. 본 연구에서는 최초로 상동열매와 블루베리의 일반성분, 항산화 및 항암 활성을 비교하였으며, 상동열매가 블루베리보다 상대적으로 높은 함량의 폴리페놀과 안토시아닌을 함유할 뿐만 아니라 블루베리보다 우수하거나 그에 필적한 항산화 및 항암 활성을 나타내고 있어, 항산화 식품 및 천연 항산화 소재로서의 활용가치가 클 것으로 사료된다.

Keywords 블루베리 · 상동열매 · 일반성분 · 항산화 · 항증식

Acknowledgments This research was supported by the 2016 scientific promotion program funded by Jeju National University.

References

- Abdel-Aal E-SM, Hucl P (2003) Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat. *J Agric food Chem* 51: 2174–2180
- Adams LS, Phung S, Yee N, Seeram NP, Li L, Chen S (2010) Blueberry phytochemicals inhibit growth and metastatic potential of MDA-MB-231 breast cancer cells through modulation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *Cancer Res* 70: 3594–3605
- Amarowicz R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA (2004) Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chem* 84: 551–562
- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 7915–7922
- An YH, Lee IS, Kim HS (2015) Quality Characteristics of Sikhye made with Berries. *Korean J Food Cook Sci* 27: 803–814
- Awika JM, Rooney LW, Wu X, Prior RL, Cisneros-Zevallos L (2003) Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J Agric Food Chem* 51: 6657–6662
- Bin Sayeed MS, Ameen SS (2015) Beta-sitosterol: a promising but orphan nutraceutical to fight against cancer. *Nutr Cancer* 67: 1216–1222
- Bridle P, Timberlake C (1997) Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Food Chem* 58: 103–109
- Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB (1987) Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936–942
- Čechovská L, Cejpek K, Konečný M, Velíšek J (2011) On the role of 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-(4H)-pyran-4-one in antioxidant capacity of prunes. *Eur Food Res Technol* 233:367–376
- Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC (2003) Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem* 81: 249–255
- Cho WJ, Song BS, Lee JY, Kim JK, Kim JH, Yoon YH, Choi JJ, Kim GS, Lee JW (2010) Composition Analysis of Various Blueberries Produced in Korea and Manufacture of Blueberry Jam by Response Surface Methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr*
- Chung HJ (2015) Comparative study of antioxidant activity of imported tropical and subtropical fruits. *Korean J Food Preserv* 22: 577–584
- Chung SK, Chen CYO, Blumberg JB (2009) Flavonoid-rich fraction from *Sageretia theezans* leaves scavenges reactive oxygen radical species and increases the resistance of low-density lipoprotein to oxidation. *J Med Food* 12: 1310–1315
- Chung SK, Kim YC, Takaya Y, Terashima K, Niwa M (2004) Novel flavonol glycoside, 7-O-methyl mearnsitin, from *Sageretia theezans* and its antioxidant effect. *J Agric Food Chem* 52: 4664–4668
- Cikman O, Soylemez O, Ozkan OF, Kiraz HA, Sayar I, Ademoglu S, Taysi S, Karaayvaz M (2015) Antioxidant Activity of Syringic Acid Prevents Oxidative Stress in L-arginine-Induced Acute Pancreatitis: An Experimental Study on Rats. *Int Surg* 100: 891–896
- de Souza VR, Pereira PA, da Silva TL, de Oliveira Lima LC, Pio R, Queiroz F (2014) Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chem* 156: 362–368 doi:10.1016/j.foodchem.2014.01.125
- Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK (2011) Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Compos Anal* 24: 1043–1048
- Food K, Association D (2005) Food standards codex Korean Foods Industry Association Seoul, Korea: 367–368
- Francis FJ (1989) Food colorants: anthocyanins. *Crit Rev Food Sci Nutr* 28: 273–314
- Hiramoto K, Johkoh H, Sako K, Kikugawa K (1993) DNA breaking activity of the carbon-centered radical generated from 2, 2-azobis (2-amidinopropane) hydrochloride (AAPH). *Free Radic Res Commun* 19: 323–332
- Horwitz W, Chichilo P, Reynolds H (1970) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists
- Hyon JS, Kang SM, Han SW, Kang MC, Oh MC, Oh CK, Kim DW, Jeon YJ, Kim SH (2009) Flavonoid Component Changes and Antioxidant Activities of Fermented Citrus grandis Osbeck Peel. *Journal of food science and nutrition* 38: 1310–1316
- Hyun TK, Song SC, Song CK, Kim JS (2015) Nutritional and nutraceutical characteristics of *Sageretia theezans* fruit. *J Food Drug Anal* 23: 742–749
- Jang HH, Nam SY, Kim MJ, Kim JB, Kim HR, Lee YM (2014) Antioxidant Activity and Protective Effects of Anthocyanins-Rich Fraction from Korean Purple Sweet Potato Variety, “Shinjami” against Oxidative Stress in HepG2 Cell. *Korean J Food & Nutr* 27: 1090–1095
- Jang HL, Yoon KY (2012) Biological Activities and Total Phenolic Content of Ethanol Extracts of White and Flesh-colored *Solanum tuberosum* L. Potatoes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1035–1040
- Jubri Z, Rahim NBA, Aan GJ (2013) Manuka honey protects middle-aged rats from oxidative damage. *Clinics (Sao Paulo)* 68: 1446–1454
- Kim J, Lee J, Park S (2011) Seed atlas of Korean plants. Academy Publishing, Seoul (in Korean)
- Kumar S, Prahalathan P, Raja B (2011) Antihypertensive and antioxidant potential of vanillic acid, a phenolic compound in L-NAME-induced hypertensive rats: a dose-dependence study. *Redox Rep* 16: 208–215
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS (2005) Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced

- in Ullung island. Korean J Food Sci and Technol 37: 233–240
- Lee Y, Lee JH, Kim SD, Shang MS, Jo IS, Kim SJ, Hwang KT, Jo HB, Kim JH (2015) Chemical Composition, Functional Constituents, and Antioxidant Activities of Berry Fruits Produced in Korea. J Korean Soc Food Sci Nutr 44: 1295–1303
- Lemańska K, Szymusiak H, Tyrakowska B, Zieliński R, Soffers AE, Rietjens IM (2001) The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. Free Radic Biol Med 31: 869–881
- Loo AY, Jain K, Darah I (2008) Antioxidant activity of compounds isolated from the pyroligneous acid, *Rhizophora apiculata*. Food Chem 107: 1151–1160
- Martineau LC, Couture A, Spoor D, Benhaddou-Andaloussi A, Harris C, Meddah B, Leduc C, Burt A, Vuong T, Mai Le P, Prentki M, Bennett SA, Amason JT, Haddad PS (2006) Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait. Phytomedicine 13: 612–623
- Nacz M, Shahidi F (2003) Phenolic compounds in plant foods: chemistry and health benefits. Nutraceuticals and Food 8: 200–218
- Nanjo F, Goto K, Seto R, Suzuki M, Sakai M, Hara Y (1996) Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Free Radic Biol Med 21: 895–902
- Ozturk Sarikaya SB (2015) Acetylcholinesterase inhibitory potential and antioxidant properties of pyrogallol. J Enzyme Inhib Med Chem 30: 761–766
- Pan MH, Chang YH, Badmaev V, Nagabhushanam K, Ho CT (2007) Pterostilbene induces apoptosis and cell cycle arrest in human gastric carcinoma cells. J Agric Food Chem 55: 7777–7785
- Papandreou MA, Dimakopoulou A, Linardaki ZI, Cordopatis P, Klimis-Zacas D, Margarity M, Lamari FN (2009) Effect of a polyphenol-rich wild blueberry extract on cognitive performance of mice, brain antioxidant markers and acetylcholinesterase activity. Behav Brain Res 198: 352–358
- Park JC, Hur JM, Park JG, Hatano T, Yoshida T, Miyashiro H, Min BS, Hattori M (2002) Inhibitory effects of Korean medicinal plants and camelliatannin H from *Camellia japonica* on human immunodeficiency virus type 1 protease. Phytother Res 16: 422–426
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med 26: 1231–1237
- Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H (1996) Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. J Agric Food Chem 44: 37–41
- Seeram NP (2008) Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. J Agric Food Chem 56: 627–629
- 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
- Sellappan S, Akoh CC, Krewer G (2002) Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. J Agric Food Chem 50: 2432–2438
- Seol GH, Kang P, Lee HS, Seol GH (2016) Antioxidant activity of linalool in patients with carpal tunnel syndrome. BMC Neurol. doi: 10.1186/s12883-016-0541-3
- Song SC, Song CK, Kim JS (2014) Vegetation and Habitat Environment of *Sageretia thea* in Jeju Island. Korean J Med Crop Sci 22: 301–305
- Velika B, Kron I (2012) Antioxidant properties of benzoic acid derivatives against superoxide radical. Free Radicals and Antioxidants 2: 62–67
- Wang M, Li J, Rangarajan M, Shao Y, LaVoie EJ, Huang TC, Ho CT (1998) Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). J Agric Food Chem 46: 4869–4873
- Wang SY, Jiao H (2000) Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. J Agric Food Chem 48: 5677–5684
- Wang Z, Ma L, Zhang X, Xu L, Cao J, Jiang W (2015) The effect of exogenous salicylic acid on antioxidant activity, bioactive compounds and antioxidant system in apricot fruit. Scientia Hort 181: 113–120
- Yang DP, Ji HF, Tang GY, Ren W, Zhang HY (2007) How many drugs are catecholics Molecules 12: 878–884
- Yu X, Zhao M, Liu F, Zeng S, Hu J (2013) Identification of 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one as a strong antioxidant in glucose–histidine Maillard reaction products. Food Res Int 51: 397–403