

## 주목 추출물의 발암 억제효과 및 암세포에 미치는 영향

황병호 · 조국난 · 최근표\* · 정성원\* · 김은정\* · 함승시\*†

강원대학교 임산가공학과  
\*강원대학교 식품·생명공학부

### The Antimutagenic and Anticancer Effect of *Taxus cuspidata* Extracts

Byung-Ho Hwang, Ju-Lan Zhao, Keun-Pyo Choi\*, Seung-Won Jung\*,  
Eun-Jeong Kim\* and Seung-Shi Ham\*†

Dept. of Wood Science and Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea  
Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

#### Abstract

This study was performed to determine the effects of antimutagenicity and anticancer of *Taxus cuspidata* produced in Korea. Extracts of *Taxus cuspidata* were obtained from leaves, barks and roots. All the samples tested had no effects on the mutagenicity by Ames test using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 or rec-assay using *Bacillus subtilis* H17 and M45 strains. However the treatment of 50µg/plate of *Taxus cuspidata* extracts showed strong antimutagenicity with 98% inhibition against TA100 induced by MNNG and with 98% inhibition against TA98 and TA100 induced by 4NQO, whereas 73~89% and 16~60% antimutagenic effect were shown against both strain induced by Trp-P-1 and Benzo(a)pyrene, respectively. The treatment of 0.5µg/µl root extracts had the highest cytotoxicity with 90% against liver cancer cell, Hep 3B, followed by bark extracts(87%) and leave extracts(72%), whereas 0.5µg/µl treatment of *Taxus cuspidata* extract had only 22~36% cytotoxicity on human normal liver cell WRL 68.

**Key words:** inhibitory effect, mutagenic effect, anticancer effect, antimutagenic effect, cytotoxicity

#### 서 론

암은 가장 치료하기 어려운 질병의 하나로 우리나라도 최근에 와서 암 환자가 크게 증가되고 있다. 최근 급속한 공업화로 인하여 산업체로부터 환경에 배출되는 독성 물질의 상당수가 발암원으로 밝혀지고 있으며, 이들 화학적 발암원이 세포내의 DNA에 손상을 일으켜 그 결과 돌연변이 및 암을 유발하는 요인이 되기도 한다는 것은 잘 알려진 사실이다(1). 유전인자의 변화로부터 악성 종양세포로의 발현은 일반적으로 오랜시간이 요구되며(2) 또한 화학물질에 의해 유도되는 암은 DNA가 손상되어 비정상적인 염기가 형성된 후 복잡한 과정을 거쳐서 나타난다고 추측되고 있다(3). 화학물질의 돌연변이 유발작용은 발암성과 관련하여 크게 주목받고 있으나, 전통약용식물을 비롯한 각종 천연물에는 변이원성을 억제 경감시키는 돌연변이 억제물질이

존재함이 밝혀지게 됨에 따라 최근 천연물에 존재하는 생리활성물질의 검색에 관한 연구가 전 세계적으로 이루어지고 있다. 한편 현재 임상에 이용되는 암 화학요법제는 일반적으로 부작용이 강하여 임파구, 골수세포 등을 암세포 보다 강하게 파괴하여 암 뿐만 아니라 다른 감염에 따른 저항성마저도 약하게 되는 경우가 많다. 그러므로 전통 약용식물이나 기타 신소재들로부터 항암제, 지질당 대사 개선제 등 새로운 의약품 개발 및 이용에 관한 연구가 세계적인 추세이다(4,5).

한편 주목에서 추출한 정유성분과 테르페노이드 화합물들은 산림육의 중요한 성분 중의 하나이다. Monoterpene의 경우, 주요한 생물학적 성질로서 강장, 구충, 항생, 항히스타민, 항염증성, 항로이마, 항종양성, 이노 거담성, 혈압강하, 살충, 자극성, 성장호르몬, 방향, 식물호르몬, 편통완화, 유독, 비타민 등의 매우 다양한 성질을 가지고 있다(6). 또한 이들 성분이 곰팡이에 대하

† To whom all correspondence should be addressed

여 상당한 항진균 효과가 있음이 연구된 바 있다(7). 최근 주목나무에서 단리한 taxol, taxotere, taxanes 등의 항암효과에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다(8). 따라서 우리나라에서 널리 자생하고 있는 주목나무의 약리적 효능을 규명하기 위하여 주목나무를 잎, 수피, 뿌리 부분으로 나누어 여러 성분들을 유기용매로 추출 분리하여 이에 대한 돌연변이원성 억제효과를 규명함과 동시에 항암효과에 관한 귀중한 기초자료를 얻고자 하는데 본 연구의 목적이 있다.

### 재료 및 방법

#### 시료 및 시료의 추출

본 실험에 사용한 재료는 강원도 산림환경연구소 시험포에서 채취한 12년생 주목(*Taxus cuspidata*)의 잎, 수피, 뿌리 등을 95년 6~7월에 채취하여 실험에 사용하였다. 시료채취는 3그루 이상의 나무에서 부위별로 3kg 정도 채취하여 혼합하였다. 그 다음 2~3cm의 크기로 절단하여 동결건조기로 건조하였다. 실험 전까지 냉장고(4°C 이하)에 보관하면서 추출 시료로 사용하였다. 냉장고에 보관한 시료 100g을 정량하여 수직으로 환류 냉각기를 부착시킨 2,000ml의 round flask에 넣고 1,000ml의 에탄올을 가하여 시료와 용매를 균질화시킨 다음 추출온도를 80±5°C로 유지하면서 12시간씩 3회 추출하였다. 이 추출액을 여과한 후 진공회전 농축기로 농축하여 주목 추출물들을 얻었으며 시료 100g에 대한 수율은 30%였다.

#### 발암물질 억제효과 실험

##### S-9의 조제

돌연변이 유발물질인 benzo(a)pyrene(B(a)P), 3-amino-1,4-dimethyl-5-H-pyrido(4,3-b) indol(Trp-P-1)을 활성형으로 만들기 위해, 체중이 200g되는 Sprague-Dawley rat(male)를 사용하여 S-9 fraction을 조제하였다. S-9 fraction은 Maron과 Ames(9)의 방법을 개량하여(10) 조제하였다. 모든 실험조작은 이전에 발표된 것처럼(11) 0~4°C의 냉동실에서 무균적으로 행하였고 유도물질로는 phenobarbital(PB)과 5,6-benzoflavone(BF)을 사용하였다. S-9 mixture는 S-9 fraction 10%, MgCl<sub>2</sub>-KCl salt 2%, 1M glucose-6-phosphate(G6P) 0.5%, 1M nicotin adenin dinucleotide(NADP) 4%, 0.2M phosphate buffer(pH 7.4) 및 멸균수를 혼합 조제하였다.

Spore rec-assay를 이용한 돌연변이원성 실험 Rec-assay에 사용되는 포자는 Kada 등(12)의 방법에

따라 *Bacillus subtilis* H17(Rec<sup>+</sup>)와 M45(Rec<sup>-</sup>)의 포자를 조제하여 포자함유 한천 plate를 제조하였다. 양성 변이원물질의 변이원성을 조사하기 위하여 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG(μg/μl))을 H17 및 M45 포자한천 plate상에 올려 놓은 네개의 paper disc (직경 8mm, 두께 1.2mm)에 각각 10, 20, 30, 40μl씩 주입하였으며 주목 추출물의 변이원성 유무도 같은 방법으로 실시하여 4°C에서 8시간 cold incubation 한 다음 37°C에서 18시간 배양하여 paper disc 주변에 형성된 생물저지대의 직경을 측정하여 변이원성 유무를 판정하였다.

Ames test를 이용한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성 실험

Ames test를 개량한 preincubation법을(11) 이용하였으며 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100균주를 사용에 앞서 원법(9)에서 제시한 방법에 따라 유전형질을 확인하였다. 주목 추출물의 항돌연변이원성을 확인하기 위해 추출물의 농도는 4mg/ml의 농도로 조제하여 2배 희석법으로 희석하여 사용하였으며, 변이원 물질의 농도는 Trp-P-1은 TA98에서는 0.5μg/plate, TA100에서는 5μg/plate를, B(a)P의 경우는 10μg/plate를, 4NQO의 경우 TA98에서는 0.45μg/plate, TA100에서는 0.5μg/plate를, MNNG의 경우 0.5μg/plate를 사용하였다. 항돌연변이 실험은 ice bath에 담긴 glass cap tube에 주목 추출물 시료 50μl, 돌연변이 유발물질 50μl, 대사 활성물질이 필요한 경우는 S-9 mix 0.25ml씩 각각 첨가하고 여기에 하룻밤 배양한 배양균주(1~2×10<sup>9</sup> cell/ml) 0.1ml씩 주입한 후 0.2M phosphate buffer(pH 7.4)로 최종부피 0.7ml가 되도록 하였다. 이것을 가볍게 vortex하여 잘 혼합한 후 37°C에서 48시간 배양한 후 생성된 revertant 수를 계측하여 항돌연변이성 유무를 판정하였다. 추출 시료와 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며 활성은 변이원 물질의 활성에 대한 시료의 억제율(inhibition %)로 나타내었으며 다음 식으로 산출하였다(9).

$$\text{Inhibition}(\%) = \frac{M - S_1}{M - S_0} \times 100$$

M: 돌연변이 물질만 존재한 경우의 복귀돌연변이 수

S<sub>0</sub>: 자연 복귀돌연변이 수

S<sub>1</sub>: 시료를 첨가하였을 때의 복귀돌연변이 수

#### 암세포 성장 저해효과 실험

##### 암세포배양

사람의 간암세포인 Hep3 B(Human hepatocellular

carcinoma)와 정상 세포인 WRL 68(Normal cell) cell은 American Tissue Culture Collection(ATCC, HB8064) 으로부터 구입하였다. 본 실험에 사용한 배지는 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, 6.7g)과 nutrient mixture F-12(5.3g)를 1 : 1(V/V) mixture, gentamycin sulfate 40mg, sodium bicarbonate 2g, hepes buffer 2g 을 3차 증류수에 용해시킨 후 pH 7.0~7.2로 조절하여 20% FBS로 보강된 배지에 접종하여 37°C(5% CO<sub>2</sub> incubator) 에서 24시간 배양하였다.

#### 암세포 생육 저해효과 실험

96 well plate의 각 well에  $5 \times 10^4$ /ml의 Hep3 B cell과 WRL 68 cell이 포함된 100 $\mu$ l의 배지를 가하여 37°C(5% CO<sub>2</sub> incubator)에서 24시간 배양한 후 각 농도의 시료가 들어있는 100 $\mu$ l의 배지를 가한 후 48시간 배양하였다. 48 시간 후 배지를 aspirator로 제거하고 미리 cooling한 TCA (trichloro acetic acid, 최종 농도 10%) 100 $\mu$ l를 가하여 4°C에서 1시간 방치하였다. 그리고 증류수로 5회 세척 하여 건조시킨 후 각 well에 1% acetic acid에 녹인 SRB (sulforhodamine B)용액 100 $\mu$ l를 가하였다. 상온에서 30 분 염색한 후 1% acetic acid로 5회 세척하여 건조시켰다. 건조시킨 후 10mM Tris 용액으로서 염색액을 녹여서 ELISA reader로 540nm에서 OD를 측정하여 암세포 및 정상 간암세포의 성장 저해 효과를 검토하였다(13).

## 결과 및 고찰

### 주목 추출물들의 발암 억제효과

Spore rec-assay를 이용한 돌연변이원성

주목의 잎, 수피, 뿌리로부터 추출한 알코올 추출물에 대하여 돌연변이원성 유무를 검토하기 위하여 *Bacillus*

*subtilis* H17(Rec<sup>+</sup>)과 M45(Rec<sup>-</sup>)균주를 이용한 rec-assay를 실시한 결과 Table 1에서와 같이 3종류의 시료에 대하여 추출물들의 농도를 증가시켜도 생육 저지 대의 차이가 없었으므로 시료 자체의 변이원성은 없는 것으로 평가되었다.

Ames test를 이용한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성 실험

주목의 잎, 수피, 뿌리로부터 추출한 알코올 추출물에 대하여 돌연변이원성 유무를 검토하기 위하여 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 두 균주를 사용한 Ames test를 실시하였다. 먼저 실험균주의 돌연변이능과 실험에 사용될 S-9 mix의 효율성 또는 그 활성을 조사하기 위하여 양성 대조구(diagnostic mutagen)로 MNNG, 4NQO, B( $\alpha$ )P 그리고 Trp-P-1를 사용하였다. 그 결과 *Salmonella typhimurium* TA98에서 diagnostic mutagen에 대한 돌연변이원성 실험에서 B( $\alpha$ )P를 10 $\mu$ g/plate를 첨가하였을 때 102 $\pm$ 12/plate의 복귀돌연변이수 나타내었으며, TA100에서는 508 $\pm$ 10/plate의 복귀 돌연변이를 나타내었다. 한편 *Salmonella typhimurium* TA100에서 MNNG 0.45 $\mu$ g/plate를 첨가하였을 때 1074 $\pm$ 28/plate를 나타내었다. 본 실험에 사용될 TA98과 TA100에 대해 검정해 본 결과 모두 강하게 reversion 되었다.

주목 추출물들의 돌연변이원성 실험은 Fig. 1에서 나타낸 바와 같이 S-9 mix를 첨가하여 대사 활성화를 시켰을 때나 첨가하지 않았을 때 모두 농도를 증가시켜도 복귀 돌연변이의 수가 자연 복귀(spontaneous)의 영역에서 증가되지 않는 것으로 보아 본 실험에서 사용한 주목 추출물들의 농도에서는 돌연변이원성이 없는 것으로 평가되었다. 한편 주목 추출물들의 돌연변이원성 억제 작용을 검토하기 위하여 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 두 균주를 사용한 Ames test에서 양성

Table 1. Mutagenicity of ethanol extracts from *Taxus cuspidata* in spore rec-assay

Sample	Dose $\mu$ g/disk	Induction zone(mm)	
		H17	M45
Leave	50	8	8
	100	8	9
	150	8	9
	200	8	9
Bark	50	8	9
	100	8	9
	150	8	9
	200	8	9
Root	50	8	9
	100	8	9
	150	8	9
	200	8	10

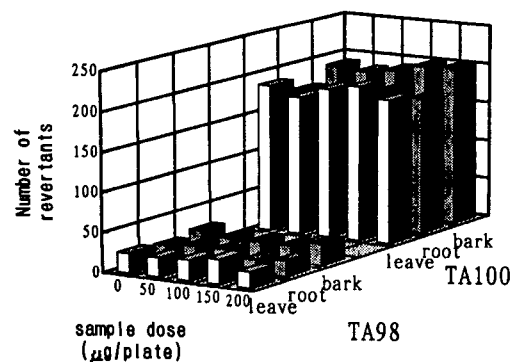


Fig. 1. Mutagenic effects of *Taxus cuspidata*(leaf, root, bark) on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

반응을 나타내며, 발암물질로 알려진 MNNG, 4NQO, B(a)P 그리고 Trp-P-1을 사용하여 주목 추출물의 농도에 따른 돌연변이원성 억제효과를 살펴 보았다. MNNG는 직접돌연변이원으로 세포내에서 alkyl diazohydroxide의 활성 높은 친전자성 물질로 분해된 후 alkyl ion을 형성하여 DNA 염기의 nucleophilic site를 알킬화하고, DNA절단, 염색체 이상의 변이를 일으키는 것으로 알려져 있다. Fig. 2는 주목의 3가지 추출물들이 MNNG에 대한 돌연변이 억제효과를 검토한 결과이다. 50 $\mu$ g/plate에서 98% 이상의 강한 억제효과를 나타내었다. 농도를 증가시켜도 농도 의존적인 항돌연변이원성은 나타내지 않았다. 따라서 주목 추출물들이 강한 친핵성(nucleophilic character)으로 인하여 MNNG가 RNA, DNA의 결합을 방지하였거나 항산화제의 역할을 발휘하여 돌연변이

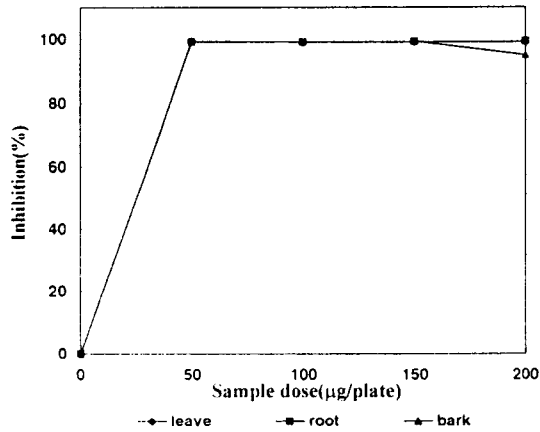


Fig. 2. Antimutagenic effects of *Taxus cuspidata*(leave, root, bark) on N-methyl-N'-nitron-N-nitrosoguanidine(MNNG) in *Salmonella typhimurium* TA100.

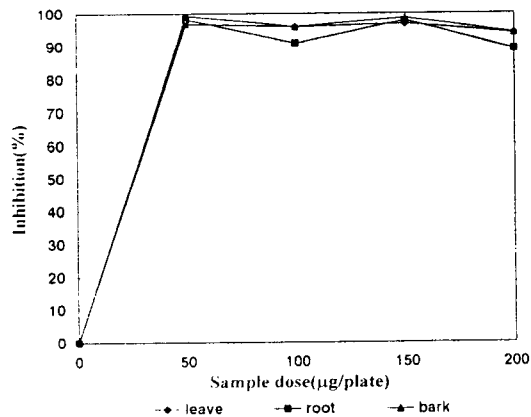


Fig. 3. Antimutagenic effects of *Taxus cuspidata*(leave, root, bark) on 4-nitroquinoline-N-oxide(4-NQO) in *Salmonella typhimurium* TA98.

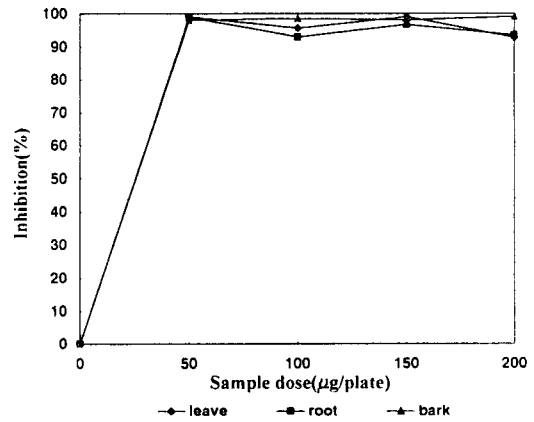


Fig. 4. Antimutagenic effects of *Taxus cuspidata*(leave, root, bark) on 4-nitroquinoline-N-oxide(4-NQO) in *Salmonella typhimurium* TA100.

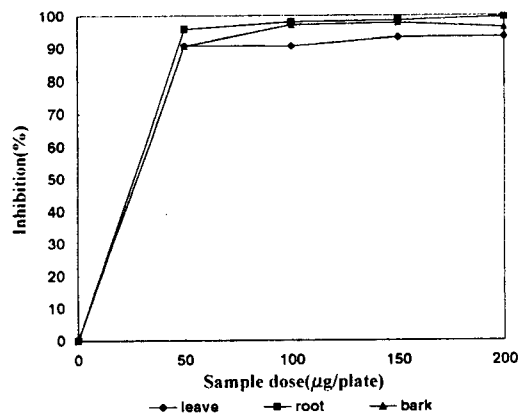


Fig. 5. Antimutagenic effects of *Taxus cuspidata*(leave, root, bark) on 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4.3-b] indol(Trp-p-1) in *Salmonella typhimurium* TA98 with S-9mix.

물질의 산화적 활성에 의한 친전자성(electro-ophile)으로의 전환을 저지함으로서 일어나는 결과라고 추측된다(14). Fig. 3과 4는 4NQO에 대한 항돌연변이 결과를 검토한 결과로서 TA98 TA100 모두 50 $\mu$ g/plate에서부터 98% 이상의 강한 항돌연변이 효과를 나타내었다. 특히 TA100에서는 3가지 추출물 중 수피부분이 가장 강한 효과를 나타내었다.

Microsomal enzyme의 대사활성화에 의해서만 돌연변이원성을 나타내는 간접 돌연변이원인 Trp-P-1에 대해서는 Fig. 5와 6에서 살펴 보았다(15). 주목의 3가지 추출물 중 뿌리부분이 TA98과 TA100 모두 가장 강한 억제효과를 나타내었으나 농도를 증가시키에 따라 농도 의존적인 효과는 나타내지 않았다. 환경오염물중에서 특히 주목되는 B(a)P에 대한 돌연변이 억

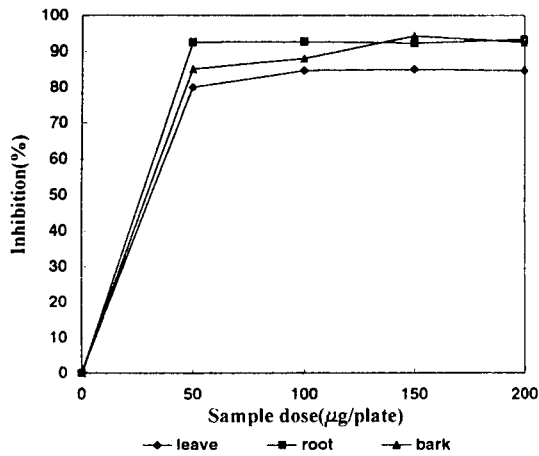


Fig. 6. Antimutagenic effects of *Taxus cuspidata*(leave, root, bark) on 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4.3-b] indol(Trp-p-1) in *Salmonella typhimurium* TA100 with S-9mix.

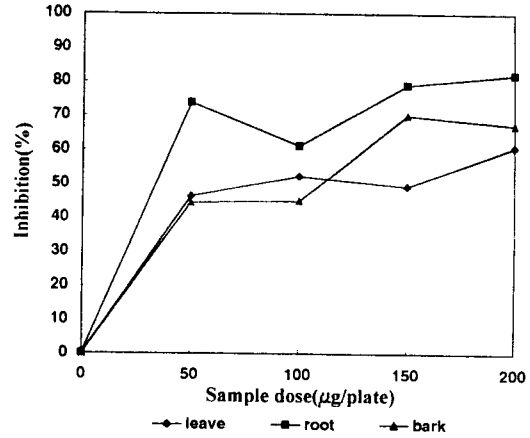


Fig. 8. Antimutagenic effects of *Taxus cuspidata*(leave, root, bark) on benzo(a)pyrene in *Salmonella typhimurium* TA100 with S-9mix.

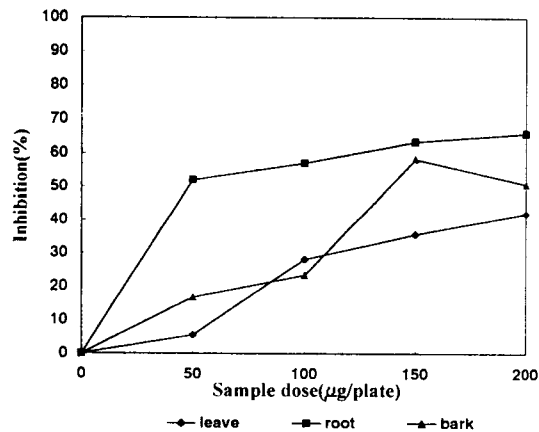


Fig. 7. Antimutagenic effects of *Taxus cuspidata*(leave, root, bark) on benzo(a)pyrene in *Salmonella typhimurium* TA98 with S-9mix.

제효과는 Fig. 7과 8에 나타내었다. 주목추출물들은 다른 돌연변이 물질 보다는 다소 낮은 억제효과를 나타내었으나 뿌리 부분은 50% 이상의 비교적 높은 억제효과를 나타내었다.

주목 추출물들의 암세포성장 저해효과

주목 추출물들이 4가지 발암물질에 대하여 돌연변이 유발에 대한 억제효과를 가졌으므로 암세포에 대한 이들의 직접적인 효과를 실험하였다. 주목추출물들의 항암효과가 암세포에 대해 선택적으로 작용해 나타낸 효과인지 혹은 모든 세포를 죽여 항암효과를 나타내는지를 확인하기 위하여 먼저 정상 간암세포인 WRL 68에 대하여 농도별 세포독성을 검토하였다. Fig. 9에 나

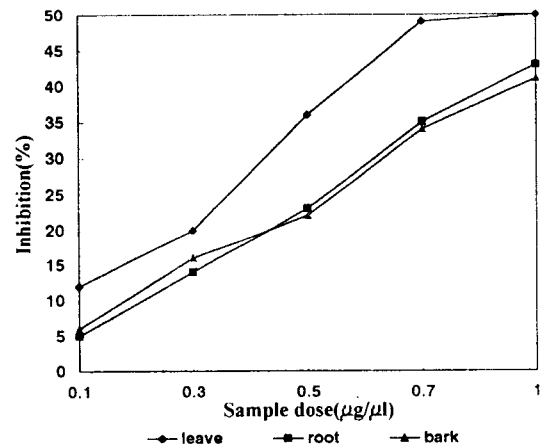


Fig. 9. Cytotoxicity effects of the extracts from *Taxus cuspidata* on human normal liver cell(WRL68).

타낸 바와 같이 0.5µg/µl의 농도에서 잎 36%, 수피 23%, 뿌리 22%의 낮은 세포독성을 나타내었다. 따라서 주목추출물들의 항암성을 확인하기 위하여 인간의 간암세포인 Hep3 B에 대하여 0.5µg/µl 이하의 농도에서 암세포 성장 저해 효과를 검토하였다. 간암세포(Hep3 B)를 24시간 배양한 후 주목 에탄올 추출물들을 각각의 농도로 첨가한 배양액과 첨가하지 않은 배양액으로 48시간 동안 배양하여 암세포 성장 저해효과를 검토한 결과를 Fig. 10에 나타내었다. 3가지 주목 에탄올 추출물 모두 농도 의존적인 효과를 나타내었다. 그리고 주목 3가지 추출물 중 잎 72%, 수피 87%, 뿌리 90%로 뿌리 추출물이 가장 높은 암세포 생육 저해효과를 나타내었다.

이상의 결과에서와 같이 주목의 3가지 에탄올 추출물들의 항암효과를 비교한 결과 뿌리 추출물이 가장

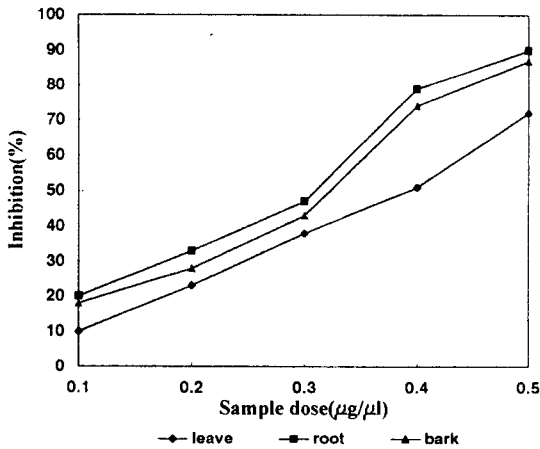


Fig. 10. Inhibition effects of the extracts from *Taxus cuspidata* on human hepatocellular carcinoma cell (Hep3B).

효과가 컸다. 김(16)에 의하면 썬바귀 추출물들의 항암 효과는 지용성 성분들이 항암효과를 나타내었다고 하였으며, 박 등(17)에 의하면 마늘의 항돌연변이 및 항암효과에 관한 연구에서 역시 지용성 성분들이 결장암 세포에 대하여 항암효과를 나타내었다고 하였다. 따라서 후속 연구로 성분 분리의 목적으로 이들의 분획물들에 대한 검토와 항암기작에 관한 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

본 실험에서는 최근 암의 치료에 많이 쓰이고, 강원도 태백산 지역에 많이 자생하고 있는 주목이, 돌연변이원에 대한 강한 항돌연변이 효과와 인간의 간암세포에 대한 높은 항암효과를 밝혔으므로 생체내 실험 및 면역활성 증강실험을 통하여 주목 추출물의 추가적인 생리활성 검토가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

한국산 주목나무의 부위별 항암효과를 규명하기 위하여 주목나무의 잎, 수피, 그리고 뿌리 부분으로 나누어 알코올 추출물을 제조한 후 변이원성 및 항돌연변이원성 실험과 인간 암세포주를 이용한 세포성장 억제효과를 검토하였다. 실험결과 세부분의 에탄올 추출물 수율은 30% 정도였다. *Bacillus subtilis* H17 및 M45 균주를 이용한 rec-assay와 *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100 두균주를 이용한 Ames test에서도 공시 시료 모두 농도 증가에 관계없이 변이원성은 없었다. 그리고 직접변이원인 MNNG를 이용한 항돌연변이원성 실험에서는 TA100에서 3가지 추출물 모두 50µg/plate 첨가시 98% 이상의 강한 항돌연변이원성을 나타내었

고 4NQO에 대한 억제효과에서는 TA98 및 TA100 모두 두균주에서 98% 이상의 강한 억제효과를 나타내었다. 간접변이원인 Trp-P-1에 대한 돌연변이원성 억제효과에서는 3가지 추출물 투여시 73~89%의 억제효과를 나타내었으며 B(a)P에 대해서는 16~60%의 억제활성을 나타내었으며 그중 뿌리 추출물이 가장 강하였다. 한편 정상간암세포인 WRL68에 대한 세포독성 실험결과 0.5µg/µl의 농도에서 22~36%의 낮은 세포독성을 나타내었으나, 간암세포인 Hep3B에 대해서는 0.5µg/µl 투여시 잎 추출물 72%, 수피 추출물 87% 그리고 뿌리 추출물이 90%의 강한 세포독성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 1995년도 교육부 학술연구 조성비(지역개발연구)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Phillips, D. H. : Chemical carcinogenesis. In "The molecular basis of cancer" Wiley-Interscience, New York, p.133(1985)
- Roverfroid, M. B. : Dietary modulation of experimental neoplastic development. Role of fat and fiber content and calorie intake. *Mutation Res.*, **259**, 351(1991)
- Weisburger, J. H. and Williams, G. M. : The decision-point approach for systematic carcinogen testing. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **19**, 561(1981)
- Ryu, B. H. : Antitumor and immunologic activity of chitosan extracted from shell of shrimp. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 154(1992)
- 김옥희, 김현식, 강석연, 이명근, 우원식, 박재갑, 류항목 : 인체 암세포주를 이용한 천연물의 항암작용 검색. 국립보건안전연구원보, **5**, 188(1992)
- 신재만 : 삼림육. 강대출판사, 춘천, p.75(1990)
- 황병호, 김현실, 남현애, 박용삼 : 주요 칩열수림 정유 및 테르페노이드의 생육저지효과. 목재과학, **13**, 11(1994)
- Luciano, B., Pierluigi, G., Elisabetta, T., Giovanni, A., Bruno, G., Gianfranco, Z. and Ezio, B. : Taxanes from the needles of *Taxus wallichiana*. *Phytochem.*, **33**, 145(1993)
- Maron, D. M. and Ames, B. N. : Revised methods for the *Salmonella typhimurium* mutagenicity test. *Mutation Res.*, **113**, 173(1983)
- Matsushima, T., Sawamura, M., Hara, K. and Sugimura, T. : A safe substitute for polychlorinated biphenyls as an inducer test. In "In vitro metabolic activation in mutagenesis testing" de Serres, F. J., Fouts, J. R., Bend, J. R. and Philpot, R. M.(eds.), Elsevier, N. Holland Amsterdam, p.85(1987)
- 함승지, 최근표, 최용순, 이상영 : 폐밀 잎 에탄올 추출물의 항돌연변이원성연구. 한국영양식량학회지, **23**, 698(1994)

12. Kada, T., Tutikawa, K. and Salaie, Y. : *In vivo* and host-mediated rec-assay procedures for screening chemical mutagens; and phloxine, a mutagenic red dye detected. *Mutation Res.*, **16**, 165(1972)
13. Skehan, P., Storeng, R. and Scudiero, D. : New Colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Nat. Can. Ins.*, **82**, 1107(1990)
14. Yano, K. : Effect of vegetable juices and milk on alkylation activity of N-methyl-N-nitrosourea. *Agric. Food Chem.*, **27**, 456(1979)
15. Wall, M. E., Wani, M. C., Hughes, T. J. and Taylor, M. : Plant antimutagen. In "*Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanism*" Kurodo, Y., Shankel, D. M. and Water, M. D.(eds.), Plenum Press, Vol. 2, p.61(1990)
16. 김소희 : 썬바퀴 추출물들의 돌연변이 유발억제 및 MG-63 암세포 성장 저해효과. *한국영양식량학회지*, **24**, 305(1995)
17. 박진영, 김소희, 서명자, 정해영 : 마늘의 돌연변이 유발억제 및 HT-29 결장암세포의 성장저해효과. *한국식품과학회지*, **23**, 370(1991)

(1996년 10월 4일 접수)