

## 수종 Flavonoid의 항헤피스바이러스효과

이지현, 김영소, 이종길, 이혁구<sup>1</sup>, 한성순\*

충북대학교 약학대학, <sup>1</sup>전일제약(주) 중앙연구소

## Antiviral Activity of Some Flavonoids on Herpes Simplex Viruses

Ji-Hyun Lee, Young-So Kim, Chong-Kil Lee, Hyuk-Koo Lee<sup>1</sup> and Seong-Sun Han\*

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763; and

<sup>1</sup>Central Research Institute, Kuhnil Pharmaceutical Co., LTD., Chunan 330-810, Korea

**Abstract** - To search for less toxic antiherpetic agents, the inhibitory effects of twelve kinds of flavonoids including chrysin, quercetin, quercitrin, rutin, fisetin, gossypin, kaempferol, morin, naringenin, naringin, hesperetin and hesperidin on the plaque formation of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) in Vero cells were examined by plaque reduction assay *in vitro*. Some flavonoids tested in this study showed potent antiherpetic activity, reducing intracellular replication of herpes simplex viruses when Vero cell monolayers were infected and subsequently cultured in medium containing flavonoids. Naringenin showed the the most potent antiviral activity against HSV-1 with selectivity index (SI) of 19.1 and hesperetin showed the most potent antiviral activity against HSV-2 with SI of 9.8. These results suggest that some flavonoids may be a potential therapeutic agent for the treatment and prevention of herpes simplex virus infections.

**Key words** - Flavonoid; antiherpetic agent; herpes simplex viruses; plaque reduction assay; selectivity index (SI).

Flavonoid는 식물의 광합성세포에 편재되어 있는 benzo-*r*-pyrone 화합물로 aglycon, glycoside 및 methyl화된 유도체로 분포한다. 구조적으로 nucleoside, isoalloxazine, folic acid와 유사하며 이 유사성이 flavonoid의 다양한 생리활성을 나타낸다.<sup>1)</sup> Flavonoid의 생리활성은 혈압강하효과, 이뇨작용, 모세혈관강화작용, 항산화작용, 항알러지 작용, 항염증작용, 항균효과, 항바이러스효과, 항암 효과 등이 있으며, 포유류의 대사활동에도 광범위한

영향을 미치는 것으로 보고되었으나 flavonoid의 생리활성에 관한 약리학적 연구는 아직 충분히 이루어지지 않고 있는 실정이다.<sup>2)</sup>

Flavonoid의 항바이러스효과에 관한 연구는 Cutting 등<sup>3,4)</sup>이 quercetin, quercitrin 및 rutin이 mouse의 rabies virus 감염에 대하여, quercitrin은 mouse의 ectromelia virus, vaccinia virus 및 rabies virus 감염에 대하여 각각 예방효과를 갖는다고 보고하였고, Beladi 등<sup>5)</sup>은 quercetin, morin, luteolin 및 fisetin 등이 pseudo-rabies virus에 대하여, Spedding 등<sup>6)</sup>은 quer-

\*교신저자 : Fax 0431-268-2732

cetin, scutellarein을 비롯한 6종의 flavonoid가 reverse transcriptase(RT)의 활성을 억제함으로써 avian myeloblastosis virus(AMV), maloney murine leukemia virus(MMLV)와 rous-associated virus-2(RAV-2)의 활성을 용량의존적으로 억제한다고 보고하였다. Barnard 등<sup>7,8)</sup>은 Euphorbiaceae 식물로부터 분리된 분자량 2,100 dalton의 천연 flavonoid polymer인 SP-303이 herpes simplex virus type 1 및 type 2에 대해 세포내로 침입하는 것을 억제하며, respiratory syncytial virus(RSV)에 대해서도 항바이러스효과를 나타낸다고 보고하였고, Sidwell 등<sup>9)</sup>은 SP-303이 mouse의 influenza A virus에 대한 억제 효과가 있음을 보고하였다. 또한 Kaul 등<sup>10)</sup>은 수종의 천연 flavonoid가 RNA 및 DNA virus의 활성을 억제하는데 있어서 다양한 항바이러스 spectrum을 나타낸다고 보고하였다.

Herpesvirus는 herpes simplex virus type 1(HSV-1)과 type 2(HSV-2), varicella zoster virus(VZV), cytomegalovirus(CMV), Epstein-Barr virus(EBV) 등이 알려져 있으며 이중 대표적인 HSV-1과 HSV-2는 형태학적으로 동일하고 약 50%의 DNA 유사성을 가지고 있지만 생물학적, 생화학적, 유전적, 임상적인 면에서 차이점을 나타내며<sup>11)</sup> HSV-1은 얼굴을 비롯한 상체부위에, HSV-2는 생식기를 비롯한 하체부위에 수포성, 괴양성 병변을 일으킨다. 초기 감염후에 HSV-2는 중추신경계와 다른 기관으로 확산되며 신경절 내에 있던 잠재성 바이러스가 재활성화함으로써 재발된다.<sup>12,13)</sup> 최근 HSV-2는 human immunodeficiency virus(HIV)의 전파에 관여하는 공동인자로서 억제해야 할 중요 바이러스감염증 중의 하나로 보고된 바 있다.<sup>14)</sup>

현재 임상적으로 사용되고 있는 항헤르페스바이러스제로는 acyclovir(ACV), idoxuridine(IDU), vidarabine(ara-A), ganciclovir(DHPG) 등의 nucleoside 유도체와 phosphonoacetic acid, phosphonoformic acid(foscarnet, PFA) 등의 pyrophosphate 유도체가 있다. 이중 acyclovir는 바이러스 감염세포에서만 활성화되는 최초의 바이러스 치료제이며 바이러스 고유의 핵산복제 효소를 선택적으로 억제하므로 부작용이 적고 효과가 우

수하여 널리 사용되고 있으나<sup>15,16)</sup> 신기능저하 환자에게는 축적되어 신장폐색이나 acyclovir 결정이 생성되며,<sup>17)</sup> 최근에는 내성바이러스의 출현에 대한 보고가 증가하고 있다.<sup>18)</sup> 또한 전신투여제로 쓰이는 vidarabine, foscarnet 등은 간기능저하, 생식세포, 신장, 간에 대한 독성이 보고되었다.

이상의 연구결과를 종합하여 항헤르페스바이러스효과에 대한 연구가 되어 있지 않은 12종의 flavonoid를 선정하여 HSV-1과 HSV-2에 대한 항헤르페스바이러스효과를 측정 한 바 그 결과를 얻었기에 보고코자 한다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 실험에 사용한 재료로 chrysin(flavone 유도체), quercetin, quercitrin, rutin, fisetin, gossypin, kaempferol, morin(flavonol 유도체), naringenin, naringin, hesperetin 및 hesperidin(flavanone 유도체) 등 12종의 flavonoid, Sigma Co. 제품을 사용하였다(Table I).

**시약 및 기기** - Eagle's minimum essential medium(EMEM), fetal bovine serum(FBS), trypsin, penicillin G, streptomycin, amphotericin B는 Gibco BRL Co., 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT), crystal violet은 Sigma Co. 제품을 사용하였다. 기기는 clean bench(Green Yanghaeng), EIA reader(Molecular Device), CO<sub>2</sub> incubator(Vision), inverted microscope(Nikon), plaque viewer(Belco), freeze dryer(Edward), autoclave(Hanyang), centrifuge(Hanil), membrane filter(Nalgene), pH meter(Fisher)를 사용하였다.

**세포 및 바이러스** - 숙주세포는 Vero 세포(Kidney, African Green Monkey, *Cercopithecus aethiops*) ATCC CCL81을, 시험바이러스는 herpes simplex virus type 1(F strain) ATCC VR-733과 herpes simplex virus type 2(G strain) ATCC VR-734를 사용하였다. Vero 세포는 10% heat inactivated(56°C, 30 min) FBS, penicillin G, streptomycin 및 amphotericin B가 함유된 EMEM으로 37°C, 5% CO<sub>2</sub>

Table I. Experimental flavonoids used in this study

Class	Name	Chemical Name	Molecular Formulae
Flavone	Chrysin	5,7-Dihydroxyflavone	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
	Quercetin	5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavonol	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>
	Quercitrin	Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>
Flavonol	Rutin	Quercetin-3-O- $\beta$ -rutinoside	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>
	Fisetin	3,3',4',7-Tetrahydroxyflavone	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>
	Gossypin	3,3',4',5,7,8-Hexahydroxyflavone-8-glucoside	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> O <sub>18</sub>
	Kaempferol	5,7,4'-Trihydroxyflavonol	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>
	Morin	5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavonol	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>
Flavanone	Naringenin	5,7,4'-Trihydroxyflavanone	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>
	Naringin	Naringenin-7-O- $\beta$ -neohesperidoside	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>
	Hesperetin	5,7,3'-Trihydroxy-4'-methoxyflavanone	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>
	Hesperidin	Hesperetin-7-O- $\beta$ -D-rutinoside	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>

incubator에서 배양하여 사용하였고 HSV-1과 HSV-2는 MOI(multiplicity of infection)가 0.01 pfu/cell의 바이러스액을 Vero 세포에서 배양한 후 바이러스 역가를 plaque reduction assay<sup>19)</sup>로 측정하여 -70°C 이하에서 보관하여 사용하였다.

**세포독성시험** - 숙주세포에 대한 세포독성은 MTT reduction assay<sup>20)</sup>에 따라 시험하였다. Vero 세포 (3.5×10<sup>4</sup> cells/well)를 96 well plate에 분주하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 24시간 배양하여 세포단층을 얻은 후, 최고농도 500  $\mu$ g/ml의 시료용액을 6단계로 배수희석하여 100  $\mu$ l씩 분주하고 48시간 배양하였다. 세포의 병변도를 확인한 후 0.5% MTT 용액을 50  $\mu$ l씩 가하고 2시간 더 배양하였다. 과량의 MTT를 제거하고 건조한 다음 DMSO로 formazan crystal을 용해하였다. EIA reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하여 50% cytotoxic concentration(CC<sub>50</sub>)의 값을 계산하였다.

**항바이러스시험** - 항허피스바이러스효과는 plaque reduction assay<sup>19)</sup>에 따라 시험하였다. Vero 세포(5×10<sup>5</sup> cells/well)를 24 well plate에 분주하고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 세포단층을 얻었다. 세포단층을 PBS로 세척하고 약 150 pfu/well로 희석한 바이러스용액을 접종하고 세포에 흡착되도록 1시간 배양한 다음, 1, 10, 20, 30 및 40  $\mu$ g/ml로 조제한 시료용액과 1% agar를 함유한 EMEM을 가한 후 plaque이 형성될 때까지 배양하였다. Plaque이 형성되면 agar overlay medium을 떼어내고 5% formalin-PBS로 세포를 고정시킨 후,

0.1% crystal violet 용액으로 염색하여 plaque 수를 세었다. Plaque 수를 대조군과 비교하여 바이러스의 증식을 50%까지 억제시키는 flavonoid의 농도인 50% effective concentration(EC<sub>50</sub>)를 구하여 selectivity index(SI)로 판정하였다.

## 결과 및 고찰

실험재료인 chrysin(flavone계), quercetin, quercitrin, rutin, fisetin, gossypin, kaempferol, morin(이상 flavonol계), naringenin, naringin, hesperetin hesperidin(이상 flavanone계) 등 12종 flavonoid의 HSV-1과 HSV-2에 대한 항바이러스효과를 측정하기 위해 plaque reduction assay에 따라 시험하여 CC<sub>50</sub>와 EC<sub>50</sub>로부터 계산한 selectivity index(SI)는 Table II와 같다. Flavonoid 시료를 1, 10, 20, 30 및 40  $\mu$ g/ml의 농도에서 시험한 결과 Vero 세포에서 증식한 HSV-1 및 HSV-2의 plaque 형성은 용량의존적으로 억제되었다. Chrysin은 EC<sub>50</sub>가 7.4  $\mu$ g/ml로 HSV-1의 plaque 형성을 가장 강하게 억제하였으나 Vero 세포에 대한 CC<sub>50</sub>가 87.0  $\mu$ g/ml로 SI가 11.8을 나타내었다. HSV-1에 대하여 가장 우수한 항허피스바이러스효과를 나타낸 flavonoid는 naringenin(Fig. 1)으로 CC<sub>50</sub>와 EC<sub>50</sub>가 각각 145.3  $\mu$ g/ml와 7.6  $\mu$ g/ml로 19.1의 SI를 나타내었다. 12종 flavonoid의 HSV-1에 대한 항바이러스효과를 SI로 평가했을 때 SI가 10 이상인 것은 naringenin, chrysin,

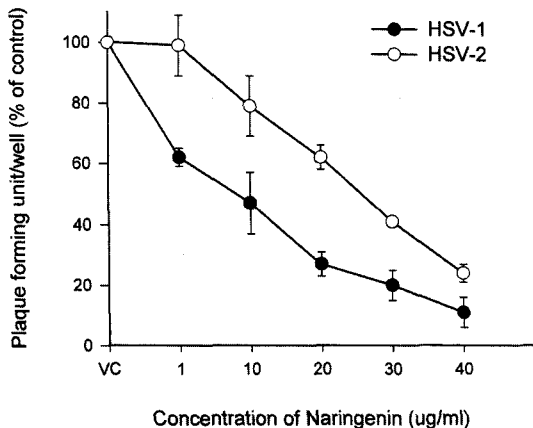
**Table II.** Antiherpetic activities of some flavonoids by plaque reduction assay

Flavonoids		CC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μg/ml)	EC <sub>50</sub> <sup>b</sup> (μg/ml)		SI <sup>c</sup>	
			HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2
Flavone	Chrysin	87.0	7.4	12.0	11.8	7.3
	Quercetin	89.8	20.8	27.2	4.3	3.3
	Quercitrin	130.6	22.7	33.7	5.8	3.9
	Rutin	111.1	32.2	21.5	3.5	5.2
Flavonol	Fisetin	41.8	24.4	19.0	1.7	2.2
	Gossypin	119.1	30.6	29.6	3.9	4.0
	Kaempferol	60.0	16.0	10.8	3.8	5.6
	Morin	146.8	24.1	69.5	6.1	2.1
Flavanone	Naringenin	145.3	7.6	25.5	19.1	5.7
	Naringin	116.6	11.3	43.2	10.3	2.7
	Hesperetin	217.2	26.0	22.2	8.4	9.8
	Hesperidin	146.4	23.6	73.0	6.2	2.0
Control	Acyclovir	913.7	1.7	0.5	537.5	1827.4
	Vidarabine	117.6	6.2	5.5	19.0	21.4

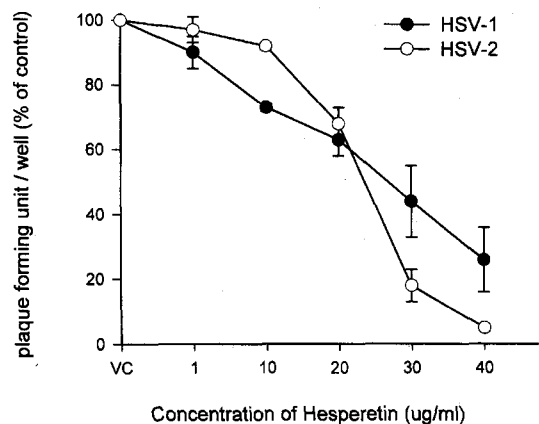
<sup>a</sup>50% cytotoxic concentration (CC<sub>50</sub>) is the concentration of the 50% cytotoxic effect.

<sup>b</sup>50% effective concentration (EC<sub>50</sub>) is the concentration of the sample required to reduce plaque formation of virus by 50%.

<sup>c</sup>Selectivity Index (SI) = CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>.



**Fig. 1.** Inhibitory effect of naringenin on the plaque formation of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) in Vero cells. Results are expressed as percent with respect to virus control (VC) group without naringenin. Each value is the mean±S.D. of quadruplicate determinations.



**Fig. 2.** Inhibitory effect of hesperetin on the plaque formation of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) in Vero cells. Results are expressed as percent with respect to virus control (VC) group without hesperetin. Each value is the mean±S.D. of quadruplicate determinations.

naringenin으로 SI는 각각 19.1, 11.8, 10.4를 나타내었다. Kaempferol은 EC<sub>50</sub>가 10.8 μg/ml로 HSV-2의 plaque 형성을 가장 강하게 억제하였으나, CC<sub>50</sub>가 60.0 μg/ml로 SI는 5.6을 나타내었다. HSV-2에 대하여 가장 우수한 항헤피스바이러스효

과를 나타낸 flavonoid는 hesperetin(Fig. 2)으로 CC<sub>50</sub>와 EC<sub>50</sub>가 217.2 μg/ml와 22.2 μg/ml으로 9.8의 SI를 나타내었다.

시험에 사용된 12종의 flavonoid 중 HSV-2보다 HSV-1에 대해 더 높은 SI를 나타낸 것은 na-

ringenin, chrysin, naringin, hesperidin, morin, quercitrin 및 quercetin 등 7종이고 HSV-1보다 HSV-2에 대해 더 높은 SI를 나타낸 것은 hesperetin, kaempferol, rutin, gossypin 및 fisetin 등 5종이며 2종의 HSV에 대한 SI를 비교하면 HSV-1에 대해 더 우수한 항바이러스효과를 나타내었다. 또한 배당체와 비당체의 항허피스바이러스효과를 비교하면 비당체는 대부분 낮은  $EC_{50}$ 를 나타내었으나,  $CC_{50}$ 는 비교적 높고, 배당체는 비교적 높은  $EC_{50}$ 와 낮은 세포독성을 나타내어 SI는 비슷한 수준의 항허피스바이러스효과를 나타내거나 비당체가 좀더 우수한 효과를 나타내었다.

이상의 실험결과에서 flavonoid 시료의 농도가 증가함에 따라 Vero 세포에서의 HSV-1과 HSV-2의 증식을 용량의존적으로 억제하였고, 바이러스를 Vero 세포에 흡착시킨 후 시료를 처리하였을 때 바이러스의 증식이 억제되는 것으로 보아 flavonoid는 허피스바이러스의 세포내에서의 복제를 억제하는 것으로 사료된다. Flavonoid의 항바이러스 작용기전에 관한 연구보고에 의하면, Muçsi와 Pragai<sup>21)</sup>는 flavonoid가 세포내 cAMP의 양을 증가시킴으로서 항바이러스효과를 나타낸다고 보고한 바 있고, Ishitsuka 등<sup>22)</sup>은 picornavirus의 uncoating에 필요한 효소를 저해함으로써 항바이러스효과를 나타낸다고 하였으며, Superti 등<sup>23)</sup>은 4,6-dichloroflavan, isoflavan과 isoflavene 유도체는 바이러스가 증식하는 동안 바이러스항원의 합성을 억제함으로써 hepatitis A 바이러스감염에 대한 억제효과를 가지는 것으로 보고한 바 있다. 한편 Cutting 등<sup>3)</sup>은 benzpyrone nucleus가 항바이러스효과를 나타내는데 있어서 필수적이라고 보고하였다. 그러나 아직 flavonoid가 항바이러스효과를 나타내는 정확한 기전은 밝혀지지 않고 있으나 다만 확실한 것은 본 연구결과에서도 볼 수 있듯이 몇몇 flavonoid가 세포내에서 바이러스의 복제를 억제할 수 있다는 것이다. 또한 naringenin은 HSV-1에 대해 SI가 19.1로 가장 우수한 항허피스바이러스효과를 나타내었으나, HSV-2에 대해서는 hesperetin이 SI가 9.8로써 가장 우수한 효과를 나타내었다. 이는 동일한 flavonoid가 HSV-1 및 HSV-2에 대한 항바이러스효과가 서로 다를 수 있음을 보여주었으며, 이러한 결과는 동종 바이러스의

strain 간의 유전자 서열이 서로 다른데서 오는 감수성의 차이에서 기인하는 것으로 사료된다.

이상의 실험결과를 고찰하여 볼 때 naringenin과 hesperetin을 비롯한 수종의 flavonoid는 항허피스바이러스 활성물질이라 사료된다.

## 결 론

1. 12종 flavonoid의 HSV-1 및 HSV-2의 Vero 세포 내에서의 증식에 대한 억제효과를 시험한 결과 용량의존적으로 plaque 형성이 억제되었다.

2. HSV-1에 대해 가장 우수한 항허피스바이러스효과를 나타낸 것은 naringenin으로  $CC_{50}$ 는 145.3  $\mu\text{g/ml}$ 이고,  $EC_{50}$ 는 7.6  $\mu\text{g/ml}$ 로 SI가 19.1이며, HSV-2에 대해 가장 우수한 항허피스바이러스효과를 나타낸 것은 hesperetin으로  $CC_{50}$ 는 217.2  $\mu\text{g/ml}$ 이고,  $EC_{50}$ 는 22.2  $\mu\text{g/ml}$ 로 SI는 9.8이었다.

## 사 사

이 연구는 충북대학교 지방대학특성화사업 산학협력연구지원사업에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Havsteen, B. (1983) flavonoids. a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* 32: 1141-1148.
- Middleton, E. Jr. and Kandaswami, C. (1993) The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. *The flavonoids*, 636-638. Chapman & Hall, London.
- Cutting, W. C., Dreisbach, R. H. and Néff, B. J. (1949) Antiviral Chemotherapy III. Flavones and related compounds. *Stanford Med. Bull.* 7: 137-138.
- Cutting, W. C., Dreisbach, R. H. and Matsushiba, F. (1953) Antiviral chemotherapy VI. Parenteral and other effects of flavonoids. *Stanford Med. Bull.* II(4): 227-229.
- Beladi, I., Pusztai, R., Muçsi, I., Bakay, M. and Gabor, M. (1997) Activity of some flavonoids against viruses. *Annals New York*

- Academy Sciences*. 284: 358-364.
6. Spedding, G., Ratty, A. and Middleton, E. Jr. (1989) Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids. *Antiviral Research* 12: 99-110.
  7. Barnard, D. L., Smee, D. F., Huffman, J. H., Meyerson, L. R. and Sidwell, R. W. (1993) Antiherpesvirus activity and mode of action of SP-303, a novel plant flavonoid. *Chemotherapy* 39: 203-211.
  8. Barnard, D. L., Huffman, J. H., Meyerson, L. R. and Sidwell, R. W. (1993) Mode of Inhibition of respiratory syncytial virus by a plant flavonoid, SP-303. *Chemotherapy* 39: 212-217.
  9. Sidwell, R. W., Huffman, J. H., Moscon, B. J. and Warren, R. P. (1994) Influenza virus-inhibitory effects of intraperitoneally and aerosol-administered SP-303, a plant flavonoid. *Chemotherapy* 40: 42-50.
  10. Kaul, T. N., Middleton, E. Jr. and Orga, P. L. (1985) Antiviral effect of flavonoids on human viruses. *Journal of Medical Virology* 15: 71-79.
  11. Mindel, A. (1989) The bloomsbury series in clinical science. Herpes simplex virus, 1-4. Great Britain, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
  12. Lapucci, A., Macchina, M. and Parkin, A. (1993) Antiherpes virus agents: A review. *II Farmaco*. 48(7): 871-895.
  13. David, O. W. and Frank, J. F. (1994) *Medical Biology*, 4th ed., 318-347. Academic Press.
  14. Hook, E. W. III., Cannon, R. O. and Nahmias, A. J. (1992) Herpes simplex virus infection as a risk factor for human immunodeficiency virus infection in heterosexuals. *J. Infec. Dis.* 165: 251-255.
  15. Chatis, P. A. and Crumpacker, C. S. (1992) Resistance to herpesviruses to antiviral drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36: 1589-1595.
  16. Beutner, K. R. (1995) Valacyclovir: A review of its antiviral activity, pharmacokinetic properties, and clinical efficacy. *Antiviral Res.* 28: 281-290.
  17. Champan, J. R. and Brigden, D. (1981) Transient renal impairment during intravenous acyclovir therapy. *The Lancet* ii: 1103.
  18. Coen, D. M. (1986) General aspects of virus drug resistance with special reference to herpes simplex virus. *J. Antimicrob. Chemother.* 18(Suppl. B): 1-10.
  19. Langford, M. P. and Weight, D. A. (1981) Virus plaque-reduction assay for interferon: Microplaque and regular macroplaque reduction assays. In Sidney Pestka(ed.), *Methods in enzymology*, 78: 339-346. Academic Press, New York.
  20. Scubiero, D. A., Shoemaker, R. H., Paull, K. D., Monks, A., Tierney, S., Nofziger, T. H., Currens, M. J., Seniff, D. and Boyd, M. R. (1988) Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res.* 48: 4827-4833.
  21. Mucsi, I. and Pragai, B. M. (1985) Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia*. 41: 930-931.
  22. Ishitsuka, H., Ohsawa, C., Ohiwa, T., Umeda, I. and Suhara, Y. (1982) Antipicornavirus Flavone Ro 09-0179. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 22: 611-616.
  23. Superti, F., Seganti, L., Orsi, N., Divizia, M., Gabrieli, R., Pana, A. and Stein, M. L. (1989) Effect of isoflavans and isoflavones on the infection of Frp/3 cells by hepatitis A virus. *Antiviral Res.* 11(5-6): 247-254.

(1999년 1월 10일 접수)