

석류 추출성분이 암세포 증식 억제와 Quinone Reductase 유도활성에 미치는 효과

심선미 · 최상원* · 배송자†

신라대학교 식품영양학과

*대구가톨릭대학교 식품영양학과

Effects of *Punica granatum* L. Fractions on Quinone Reductase Induction and Growth Inhibition on Several Cancer Cells

Sun-Mi Shim, Sang-Won Choi* and Song-Ja Bae†

Dept. of Food and Nutrition, Silla University, Pusan 617-736, Korea

*Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University, Taegu 712-702, Korea

Abstract

Various lines of evidence suggest that dietary components protect the initiation step of carcinogenesis. In this study, the ethylacetate (PGMEA), ethylether (PGMEE), butanol (PGMB) and aqueous (PGMA) soluble fractions of *Punica granatum* L. (PG) were screened for their growth inhibition using the MTT assay on HepG2, HeLa, C6, MCF-7 and HT-29 cells and for their activity to induce quinone reductase (QR) in HepG2 cells. Among various fractions of *Punica granatum* L., the PGMEE showed the strongest growth inhibition at 500 µg/mL which resulted 92.5% on HeLa cell lines and 97.8% on C6 cell lines. The PGMEA and PGMB also showed significant growth inhibition. The assay of QR induction on HepG2 cells indicated that PGMEE had the highest activity among all the fractions. The QR activity in HepG2 cells, grown in the presence of PGMEE at the concentration of 50 µg/mL, was 1.4 times more effective compared with the control value of 1.0. These results suggested that useful cancer chemoprevention materials could be isolated from PGMEE fraction of *Punica granatum* L.

Key words: *Punica granatum* L., cytotoxicity, quinone reductase, cancer cell lines

서 론

인류문명의 발달과 더불어 심각한 환경오염과 식생활 균형의 부조화는 오늘날 인류의 건강을 심각하게 위협하고 있는 주요 문제가 되고 있으며 이와 같은 현상은 암을 비롯한 각종 만성질환의 주요원인으로 지목되고 있다(1).

암은 전세계적으로 한해에 약 700만명 이상의 사망원인이 되는 질환으로 우리나라에서도 약 5~6만명 정도가 암으로 희생된 것으로 보고되어 있으며 암에 의한 인체 사망률은 수명 연장과 더불어 계속 증가 추세로서 2000년대 초에는 제1의 사망원인이 될 것으로 추정되고 있다(2).

여러 역학 조사에 의하면 암 발생의 80~90%가 환경적 인자에 의해 일어나는 것으로 밝혀졌으며(3) 치료요법으로는 수술요법, 방사선 요법, 면역요법 및 유전자 요법 등을 사용하고 있으나(4,5), 수술요법, 방사선 요법은 국소적인 치료법이므로 한계성이 있고, 전신요법인 면역요법 또한 치료방법이 정립되지 않은 상태이므로 이런 문제의 해결을 위하여 항암

효능이 우수한 새로운 천연산물에서 안전성 있는 약물개발이 절실히 요구되고 있다(6-8). 그 중에서도 발암과정의 가장 중요한 본질인 다단계 발암 과정을 근간으로 하여 천연물을 중심으로 한 물질을 이용해 발암과정을 차단하는 화학적 암예방(cancer chemoprevention)이 많이 연구되고 있으며(9), 이와 같은 암예방 연구는 암발생의 초기단계에서 식품, 천연물질 또는 생약성분(natural/medicinal herbs) 등에서 비롯된 저독성의 비교적 안전한 암예방 가능 물질을 장기간 사용하므로써 암발생 가능성이 높은 인구집단의 암 발생을 지연 또는 억제하려는 과학적 시도의 하나로 평가받고 있다(1).

최근에는 천연식물 자원으로부터 생리활성을 가진 물질검색이 많이 이루어지고 있으며, 특히 식품중에는 발암 저지 또는 돌연변이 물질 뿐만 아니라 암을 예방하는 성분들이 많이 존재하는 것으로 알려져 있다. 즉 이와같은 성분들 중 우리나라 고유의 식품인 된장(10), 여러 산채류(11,12), 생약류(13-15) 및 버섯류(16,17) 등의 항암 및 암예방에 관한 연구

†Corresponding author. E-mail: sjbae@silla.ac.kr
Phone: 82-51-309-5462, Fax: 82-51-309-5176

가 많이 이루어지고 있으며, Vernon과 Gary(18)는 녹차와 홍차의 화학적 암예방 기작을 비교분석하였고, Bae 등(19,20)은 색상식품으로 애용되는 당근의 세포독성 및 암예방 효과에 대해 연구한 바 있고, Ham 등(21)은 우리나라에서 널리 자생하고 있는 주목이 돌연변이원에 대한 강한 항돌연변이 효과와 인간의 간암세포에 대한 높은 항암효과가 있음을 밝혀냈으며, Cho 등(14)은 감두약침약, 열수추출액 및 대감두 약침액의 암세포 성장억제 효과를 연구한 바 있다.

본 연구에서 시도한 석류(*Punica granatum* L.)는 유럽 동남부에서 히말라야에 걸쳐 자라는 석류과에 속한 낙엽소목으로서 옛부터 열매와 줄기껍질과 뿌리의 껍질을 건조하여 촌충의 구제, 설사, 이질, 구내염, 장출혈에 효과가 있는 것으로 알려져 한약재로 많이 쓰여왔으며 동의 치료에서는 탄닌이 많아 수렴성 건위약으로도 쓰여왔다(22,23). 석류의 약효에 있어서 주요한 유효성분은 alkaloid인 isopelletierine이며 그외 tannin인 punicalin, punicalagin 등과 inuline, mannitol, sorbitol, malic acid 등이 알려져 있으며 이러한 함량은 나무의 품종 및 그 부위에 따라 각각의 양이 다르며 약재로는 총 alkaloid를 0.4%이상 함유하는 것을 주로 사용한다. 또한 석류피의 항균작용에 관해서는 *in vitro*에서 미생물의 생육을 억제하는 효과와 병원성 virus fungi의 항균작용에 대한 보고가 있다(24,25).

본 연구에서는 석류추출물의 암세포 증식 억제 효과 및 암예방에 관한 연구가 거의 없음을 감안하여 석류의 각 용매 분획별 성분이 암예방 건강 보조식품 개발의 기초자료로 사용될 수 있는지를 탐색하고, 식품산업에서의 암예방효과를 가진 기능성 식품으로의 진단을 위해 다음과 같은 실험을 행하게 되었다.

재료 및 방법

재료 및 기기

본 실험에 사용된 석류(*Punica granatum* L.)는 1999년 함암산 석류를 구입하여 음건하였다. 이 시료를 추출·분획해서 각 암세포주에 대한 세포 증식 억제효과(growth inhibition)와 quinone reductase(QR)유도 활성 물질 검색에 사용하였다.

세포실험에 사용된 시약 중 NP-40과 menadione은 Sigma사 제품을 구입하였고 flavin adenine dinucleotide(FAD), dicumarol 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase는 Amresco사 제품을 구입하였으며, minimum essential medium (MEM), Dulbeco's Eagle modified medium(DMEM)과 phosphate buffered saline(PBS) 등은 Gibco-BRL(USA)에서 구입하였으며, 그외 연구에 사용된 용매 및 시약은 특급 또는 일급을 사용하였다.

암세포 배양을 위해 CO₂ incubator(Forma scientific 3546, USA)를 사용하였고, 그외 Clean bench, Rotary evaporator, Microscopy, Deep freezer 및 UV-spectrophotometer 등을

사용하였다.

시료의 추출 및 분획물 제조

시료로 사용된 석류는 건조 후 분말화하여 메탄올을 첨가한 후 37°C에서 진탕배양한 후 4시간동안 3회 반복추출하여 회전식 진공농축기로 감압 농축시킨 후 동결건조하였으며, 이 메탄올추출물(PGM)을 다시 ethylacetate(PGMEA), ethyl-ether(PGMEE), butanol(PGMB) 및 수층(PGMA)으로 각각 분획하고 각 층을 감압농축 후 동결건조하여 분말로 만들어 시료로 사용하였다(Fig. 1).

암세포 배양

본 실험에 사용한 암세포주는 인체 간암 세포인 HepG2 (human hepatocellular carcinoma), 자궁경부암 세포인 HeLa (human cervix adenocarcinoma), 신경교종세포인 C6 (mouse glioma), 유방암 세포인 MCF-7(human breast adenocarcinoma pleural effusion) 및 대장암 세포인 HT-29 (human colon adenocarcinoma)로서 1999년 3월 대전 소재 한국과학기술원 생명공학연구소로부터 분양받았다. HepG2와 C6 세포주는 MEM medium, HeLa와 MCF-7세포주는 DMEM medium, HT-29세포주는 RPMI1640 medium에 10%의 fetal bovine serum(FBS)과 1% 100 units/mL의 penicillin streptomycin이 함유된 것으로 T-75 flask에 이식한 후, 37°C 5% CO₂ incubator에서 monolayer로 배양하였다.

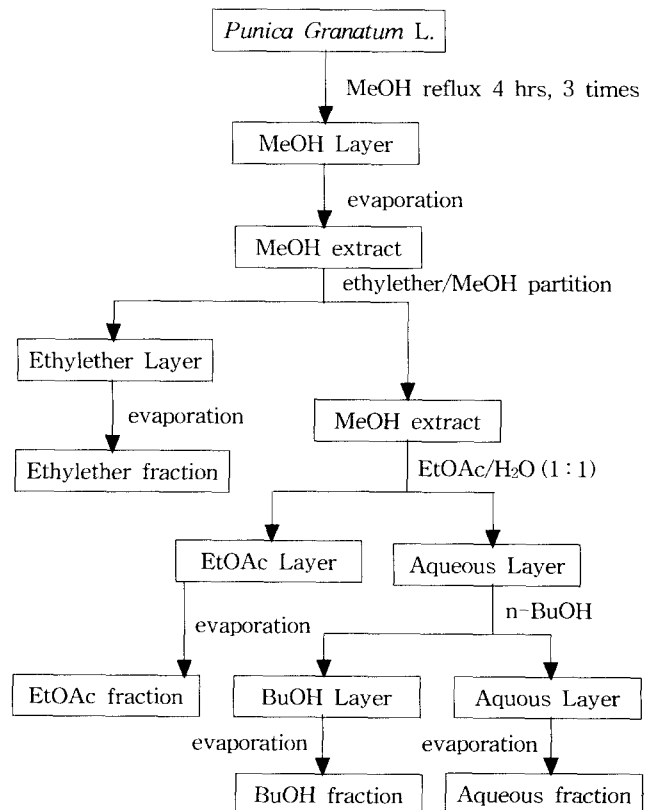


Fig. 1. Fractionation procedure of *Punica granatum* L.

위 5종의 암세포주는 일주일에 2~3회 정도 새로운 배지로 교환하고 flask에 암세포가 5×10^4 cells/mL 정도 증식되면 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.0)으로 2번 세척한 후 trypsin-EDTA를 처리하여 바닥에서 세포를 분리한 후, 배양액으로 암세포가 골고루 분산되도록 희석하여 T-75 flask에 10 mL씩 분할하여 주입하고 4~5일마다 계대배양 하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양시 각각의 passage number가 10회 이상일때는 액체질소탱크로부터 새로운 세포를 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다.

암세포 증식 억제 효과

석류 추출 분획물의 암세포 증식 억제 효과는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT assay)(26,27)를 사용하여 행하였다. 각 세포주를 1×10^5 cells/well의 농도로 맞추고 24 well에 각각 1 mL씩 첨가하여 24시간동안 37°C, 5% CO₂ incubator에 배양한 후 용매종류별 분획물을 각각 일정량의 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 100, 200, 300, 400 및 500 µg/mL의 농도로 첨가하였다. 48시간동안 배양한 후 각 well에 PBS 완충액에 녹인 MTT 용액을 100 µL씩 첨가하여 4시간동안 다시 배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 흡수되지 않게 상등액을 제거하고 DMSO와 ethanol을 1:1로 혼합한 용액 1 mL를 첨가하여 천천히 녹인 후 UV-visible spectrophotometer를 이용하여 570 nm, 690 nm에서 측정하였다. 대조군 세포수를 100%로 정하고 상대적인 세포성장억제율을 구하였다.

Quinone reductase(QR) 유도 활성 측정

QR생성 유도 효과는 Prochaska와 Santamaria(28)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. T-75 flask의 세포가 80% 이상 증식하게 되면 24 well plate의 각 well에 1×10^4 cells/mL 되도록 HepG2세포주를 분주하여, incubator에 24시간동안 배양한 후 석류 추출물을 각각 DMSO에 녹여 50, 100, 150 및 200 µg/well의 농도로 첨가하고 다시 24시간동안 배양한 다음 배양액을 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 250 µL의 lysis buffer(10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 14 mM NaCl, 15 mM MgCl₂, 0.5% NP-40)를 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에 10분간 두면서 cell을 lysis한 후 reaction mixture 즉, 10 mM Tris-HCl(pH 7.4), 0.5 mg/mL BSA, 0.008% tween-20, 40 µM FAD, 0.8 mM glucose-6-phosphate, 2 U/mL glucose-6-phosphate dehydrogenase, 25 µM NADP, 40 µg/mL MTT 및 1 mM menadione을 혼합하여 well에 1 mL씩 첨가하여 5분동안 반응시킨 후, 반응 정지용액인 10.3 mM dicumarol, 0.5% pyridine, 5 mM potassium phosphate(pH 7.4) 혼합액을 250 µL씩 첨가하여 효소반응을 정지시키고 UV-visible spectrophotometer를 이용하여 610 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 그리고 단백질량은 동일한 set의 well plate에 대한 crystal violet 염색방법으로 정량하였다.

결과 및 고찰

석류의 methanol추출물 및 분획물의 수득률

석류의 껍질과 씨를 분리하여 음건한 후 얻어진 석류 690 g을 methanol로 추출하여 270.5 g(39.20%)의 추출물을 얻었다. 이 methanol추출물을 ethylether(PGMEE), ethylacetate(PGMEA), butanol(PGMB) 및 수층(PGMA)의 용매별로 분획하여 PGMEE층은 2.5 g(0.36%), PGMEA층은 9.34 g(1.35%) 및 PGMB층은 30.4 g(4.41%)을 얻었고 나머지 PGMA층은 71.7 g(10.39%)의 분획물을 얻었다.

석류 분획물의 *in vitro*에서 암세포 증식억제 효과

석류의 메탄올 추출물을 ethylacetate(PGMEA), ethylether(PGMEE), butanol(PGMB) 및 수층(PGMA)으로 분획한 뒤 각각 분배하여 암세포 5종을 이용해 암세포 증식 억제효과를 검색하기 위해서 MTT assay를 수행하였다.

Fig. 2는 인체 간암세포인 HepG2에 각 시료 분획물을 100, 200, 300, 400 및 500 µg/mL씩 첨가했을 때의 암세포 증식 억제 효과를 나타낸 그림으로, PGMEE층의 경우 실험 최고 농도인 500 µg/mL에서는 92.6%의 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타내었고, PGMEA와 PGMB의 경우도 농도 의존적으로 암세포 증식 억제 효과가 증가하였다. 자궁경부암 세포인 HeLa에 대한 세포독성 실험 결과(Fig. 3)에서 석류 용매 분획별 HeLa세포주에 대한 효과도 HepG2세포주에 대한

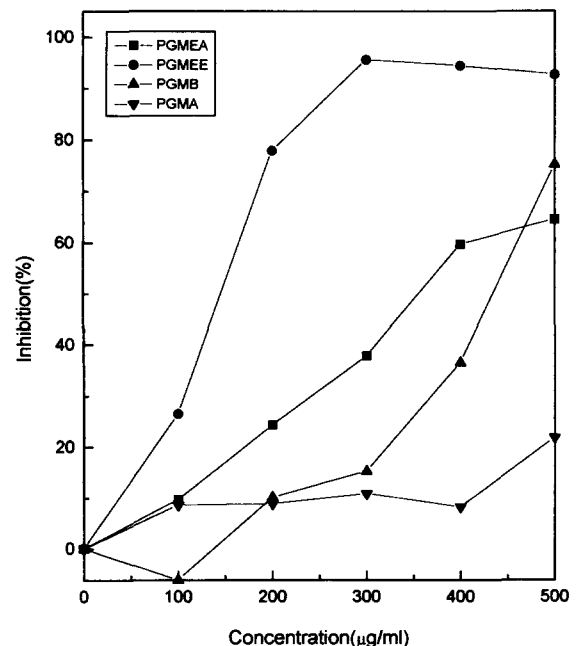


Fig. 2. Inhibitory effect on cell survival of the fractions from the methanol extract of *Punica granatum* L. on HepG2 cells. PGMEA: Ethylacetate partition layer of PGM PGME: Ethylether partition layer of PGM PGMB: Butanol partition layer of PGM PGMA: Aqueous partition layer of PGM

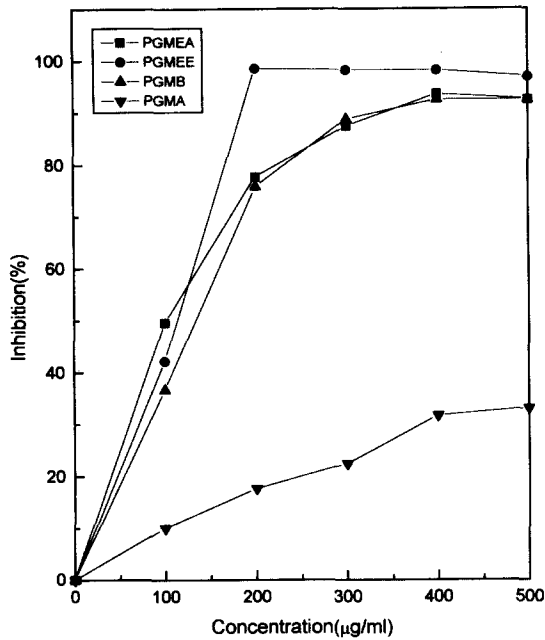


Fig. 3. Inhibitory effect on cell survival of the fractions from the methanol extract of *Punica granatum* L. on HeLa cells. Experimental groups: refer to Fig. 1.

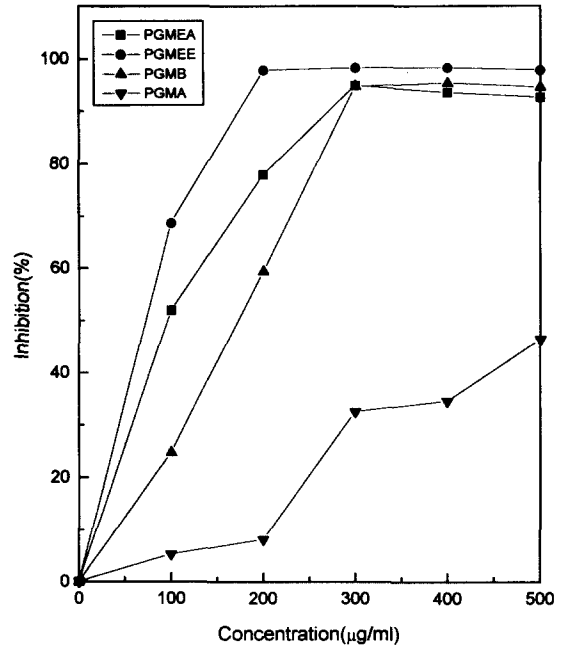


Fig. 4. Inhibitory effect on cell survival of the fractions from the methanol extract of *Punica granatum* L. on C6 cells. Experimental groups: refer to Fig. 1.

결과와 유사하게 나타났으며, 특히 PGMEE층은 200 µg/mL 농도에서 98.5%의 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었고 최고농도 500 µg/mL에서는 PGMEE, PGMEA와 PGMB 층 모두 92.5%이상의 높은 세포 증식 억제 효과를 나타내어 석류 분획물의 암세포 증식 억제 효과가 HepG2세포에서보다 HeLa세포의 효과가 더 월등하였다. 반면 PGMA층은 다른 층에 비해서 그 효과가 아주 미약하였다. Fig. 4는 신경교종 세포인 C6에 대한 결과로 분획물 첨가농도 200 µg/mL에서 PGMEE의 효과가 월등하였으며 최고 첨가농도인 500 µg/mL에서는 PGMEE, PGMB 및 PGMEA순으로 세가지 용매별 분획물은 각각 97.8%, 94.5% 및 92.5%로 HeLa세포의 결과와 비슷한 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다. Fig. 5에 나타난 유방암 세포 MCF-7의 경우는 HeLa와 C6세포주에 비해서는 그 효과가 낮았으나 최고농도인 500 µg/mL에서 PGMEE층의 경우는 86.9%를 나타내었고 PGMEA의 경우 63.2%로 앞서 다른 세포주에 비해 낮은 각 용매별 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다. Fig. 6은 대장암 세포인 HT-29의 세포 증식억제효과를 나타낸 것으로 앞에서 언급한 4종의 암세포주에 비해 4가지 분획물의 효과가 모두 미약하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 용매별로 분획한 4가지의 석류 분획물을 5종의 암세포주에 가한 결과 각 암세포주에 미치는 암세포 증식 억제 효과는 석류의 ethylether분획층인 PGMEE층이 그 효과가 월등히 높았으며 PGMEA 및 PGMB 층도 암세포 증식억제 효과가 비교적 높게 나타났다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 석류의 생리활성 물질은 비극성 물질로서 ethylether층에 주로 존재한다는 결론을 얻을 수

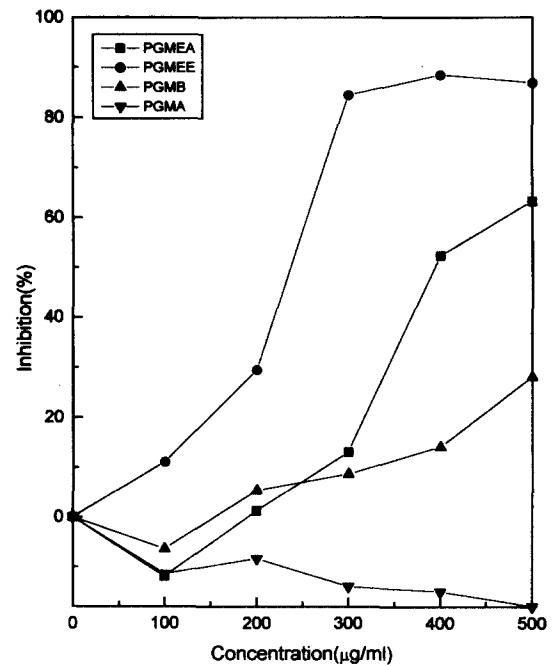


Fig. 5. Inhibitory effect on cell survival of the fractions from the methanol extract of *Punica granatum* L. on MCF-7 cells. Experimental groups: refer to Fig. 1.

있었으며 지속적인 구조 동정을 행함으로써 그 기전을 알아 내고 활성물질을 위한 연구를 수행하고자 한다.

Quinone reductase 유도 활성

본 연구에 사용된 quinone reductase(QR)는 phase II 무독화 효소중의 하나로 돌연변이 또는 발암물질 등에 의한 DNA

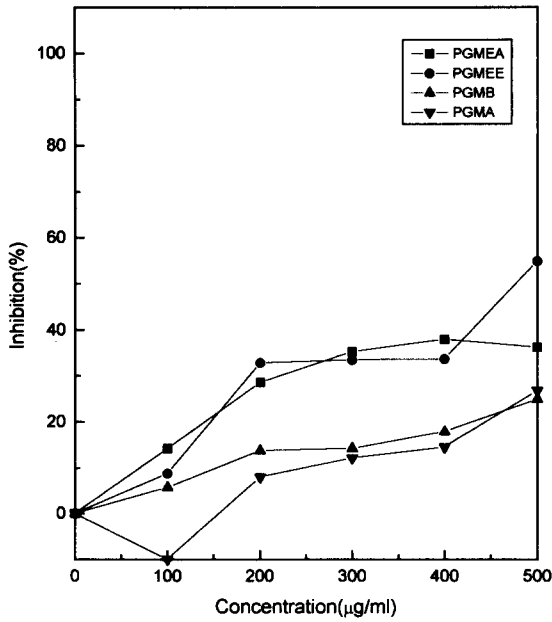


Fig. 6. Inhibitory effect on cell survival of the fractions from the methanol extract of *Punica granatum* L. on HT-29 cells. Experimental groups: refer to Fig. 1.

와의 상호작용을 차단하는 효소이며 NAD(P)H를 이용하여 quinone류의 환원을 촉매하는 flavoprotein 일종이다. 특히 QR은 2상 효소계의 지표효소로서 다양한 종류의 항암물질에 의해 활성이 유도되는 특성을 가지고 있어서 암예방 물질의 탐색에 많이 사용되어 왔다(29).

암세포 증식 억제 효과에 사용한 5종의 암세포 중 유일하게 quinone reductase를 가지고 있는 HepG2세포주를 사용하여 식료 추출물의 4가지 분획층을 이용한 QR유도활성을 측정 한 결과는 Fig. 7과 같다. HepG2암세포주에 대한 용매별 식료 분획물을 각각 50, 100, 150 및 200 µg/mL씩 첨가했을 때 PGMEE층에서 유의적으로 QR유도활성이 나타났으며 MTT방법으로 암세포 증식 억제 효과가 높았던 PGMEA층은 그 효과가 아주 미약하였다. 대조군을 1로 했을 경우 PGMB와 PGMEE층은 50 µg/mL에서 대조군에 비해 각각 1.5배 및 1.4배로 다른 층에 비해 비교적 높은 효소활성을 나타내었으나 특히 PGMB층은 분획물의 첨가농도가 높아질 때 그 효과가 급히 저하되었으며 PGMEA층도 그 효과가 감소하였다. 이상의 결과에서 식료의 여러 용매분획물 중 PGMEE층에서 비교적 높은 QR유도활성을 보였으므로 이 분획층에 암예방 효소계 quinone reductase의 inducer가 존재함을 추정할 수 있었다.

본 실험 결과 식료 분획물 중 ethylether층인 PGMEE층이 5종의 암세포주에서 모두 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타내었고 암예방 QR유도활성 효과도 가장 높게 나타났으므로 식료의 PGMEE층에는 생리활성 물질이 함유되어 있을 가능성이 높을 것으로 추정되므로 이에 대한 단계적인 물질

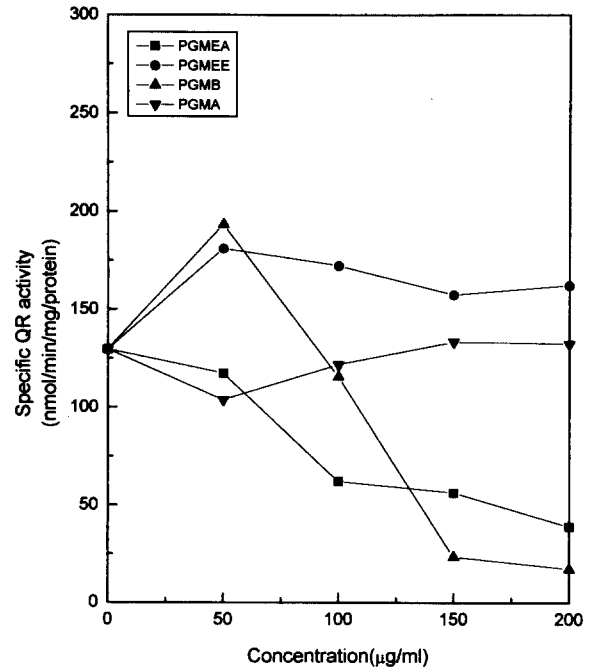


Fig. 7. Effects of the fractions from the methanol extract of *Punica granatum* L. on the induction of Quinone reductase (QR) in HepG2 cells. Experimental groups: refer to Fig. 1.

의 분리 동정이 이루어져 천연물을 이용한 암예방 차원의 식품속의 약이 되는 물질 개발이 기대되는 바이다.

요 약

옛부터 질병 치료를 위해서 민간요법이나 한약재로 쓰였으며 설사, 이질, 구내염 및 장출혈 등에 효과가 있는 것으로 알려진 식료를 추출, 분획하여 5종의 암세포주(HepG2, HeLa, C6, MCF-7, HT-29)를 이용하여 암세포 증식 억제 실험을 한 결과 HepG2 세포의 경우 PGMEE층에서는 최고농도인 500 µg/mL에서 92.6%의 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타내었고 PGMB도 75.1%로 비교적 높은 암세포 증식 억제 효과가 나타났다. 자궁경부암 세포인 HeLa세포에서는 PGMEE, PGMEA, PGMB순으로 각각 96.9%, 92.5%, 92.5%로 월등히 높은 효과가 나타났고, 신경교종세포인 C6에서도 최종농도 500 µg/mL에서 PGMEE, PGMB 및 PGMEA순으로 각각 97.8%, 94.5% 및 92.5%의 효과를 나타내어 HeLa세포주와 비슷한 높은 암세포 증식 억제 효과가 나타났다. 유방암 세포인 MCF-7에서는 PGMEE층이 86.9%의 암세포 증식 억제 효과를 나타내었고 그의 층은 효과가 미약하였으며, 인체 대장암 세포인 HT-29세포주는 모든 층이 60% 이하의 낮은 세포독성 억제효과를 나타내어, 다른 세포에 비해 상대적으로 효과가 미약하였다. 이상과 같이 5종의 암세포에 대한 증식 억제 효과 실험에서 전반적으로 PGMEE 층이 월등히 강한 암세

포 증식 억제효과를 보임을 알 수 있었다. 한편 인체 간암세포인 HepG2를 이용하여 QR효소 유도 활성 여부를 측정할 결과 분획물 첨가농도 50 µg/mL에서 PGMEE가 대조군에 비해 1.4배로 나타나 유의적 효과가 있었으며 PGMB의 경우 50 µg/mL에서 대조군에 비해 1.5배의 유도활성 효과가 나타났으나 그 이후 농도 증가와 더불어 QR유도효과가 급격히 떨어져 추후 그 이유와 기전을 밝히고자 한다.

문 헌

1. 분자암학회·한국유전자이식 연구재단 : Cancer chemoprevention (2000)
2. American cancer society : Cancer Facts and Figures (1997)
3. Cooper, G.M. : *Elements of human cancer*. Jones and Bantlett Publishers, Inc., Boston (1992)
4. Giampietti, A. : Drug-mediated increase of tumor immunogenicity *in vivo* for a new approach to experimental cancer immunotherapy. *Cancer Res.*, **41**, 681-687 (1981)
5. Hwang, B.H., Zhao, J.L., Jung, K.P., Kim, E.J. and Ham, S.S. : The antimutagenic and anticancer effect of *Taxus cuspidata* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **25**, 1062-1068 (1998)
6. Cho, K.H., Han, S.H., Lim, J.K., Shon, Y.H., Lee, Y.T. and Nam, K.S. : Antitumor activity of gamdutang aqua-acupuncture solution. *Korean J. Life Science.*, **9**, 677-683 (1999)
7. Goodman, G.Y., Yen, Y.P., Cox, T.C. and Crowley, J. : Effect of verapamil *in vitro* cytotoxicity and vinblastine in human tumor cell. *Cancer Res.*, **47**, 2295-2311 (1987)
8. Fish, B. : Clinical trials for the evaluation of cancer therapy. *Cancer.*, **54**, 2609-2615 (1984)
9. Sporn, M.B. : Carcinogenesis and cancer. *Cancer Res.*, **51**, 6215-6218 (1998)
10. Choi, S.Y., Cheigh, M.J., Lee, J.J., Kim, H.J., Hong, S.S., Chung, K.S. and Lee, B.K. : Growth suppression effect of traditional fermented soybean paste on the various tumor cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 459-463 (1999)
11. Ham, S.S., Han, H.S., Choi, G.P. and Oh, D.H. : Inhibitory effects of synurus deltoides extracts on the mutagenesis induced by various mutagens. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 528-533 (1997)
12. Ham, S.S., Lee, S.Y., Oh, D.H., Jung, S.W., Kim, S.H., Jeong, C.K. and Kang, I.J. : Cytotoxicity of *Ligularia fischeri* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 987-992 (1998)
13. Cheng, G.C., Lee, J.Y., Kim, D.C., Suh, S.O. and Hwang, W. I. : Inhibitory effect of *Salvia miltiorrhiza* extract on growth of some cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 726-731 (2000)
14. Cho, K.H., Han, S.H., Lim, J.K., Shon, Y.H., Lee, Y.T. and Nam, K.S. : Antitumor activity of gamdutang aqua-acupuncture solution. *Korean J. Life Science.*, **9**, 677-683 (1999)
15. Hyun, J.W., Lim, K.H., Shin, J.E., Sung, M.S., Won, Y.J. and Paik, W.H. : Antineoplastic effect of extracts from traditional medical plants and various plants. *Kor. J. Pharmacogn.*, **25**, 171-177 (1994)
16. Kim, H.J., Han, J., Yang, E.J., Lee, K.R. and Lee, I.S. : Chemoprevention effect of *Polyzellus mutiplex*, a wild and edible mushroom. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 161-167 (2000)
17. Ji, J.H., Kim, M.N., Chung, C.K. and Ham, S.S. : Antigenotoxic effects of *Phellinus lintens* and *Agaricus blazei* Murill extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 513-517 (2000)
18. Vernon, E.S. and Gary, J. : Comparative chemopreventive mechanisms of green tea, black tea and selected polyphenol extracts measured by *in vitro* bioassay. *Carcinogenesis*, **21**, 63-67 (2000)
19. Bae, S.J., Roh, S.B. and Han, E.J. : Cytotoxicity of *Daucus carota* L. on various cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 153-160 (2000)
20. Bae, S.J., Roh, S.B. and Han, E.J. : The effects on quinone reductase induction of *Daucus carota* L. *Korean J. Life Science*, **10**, 79-85 (2000)
21. Ham, S.S., Lee, S.Y., Choi, M. and Hwang Bo, H.J. : Antimutagenicity and cytotoxicity effects of *woorimil* wheat flour extracts added with wild herb and seaweed powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 1177-1182 (1998)
22. 남산당. 원색 천연 약물 대사전 (1989)
23. 경희대 한의대 안덕균저 : 한국 본초도감. 교학사 (1999)
24. Wynder, E.L. and Gori, G.B. : Contribution of environment to cancer medicine. *J. Nat'l. Cancer Inst.*, **58**, 826-832 (1997)
25. Wakabayashi, K., Nagao, M., Esumi, H. and sugimura, T. : Food-derived mutagens and carcinogens. *Cancer Res.*, **52**, 2092-2096 (1992)
26. Michael, C.A., Dominic, A.S. and Anue, M. : Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.*, **48**, 589-595 (1998)
27. Carmichael, J., De Graff, W.C., Gazder, A.F., Minna, J.D. and Mitchell, M.B. : Evaluation of a compound found in grapes and colorimetric assay : Assesment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, **47**, 936-942 (1987)
28. Prochaska, H.J. and Santamaria, A.B. : Direct measurement of NAD(P)H : Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells : A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducers. *Anal. Biochem.*, **169**, 328-336 (1988)
29. Godon, G.B., Prochaska, H.J. and Yang, L.Y.S. : Induction of NAD(P)H : quinone reductase in human peripheral blood lymphocytes. *Carcinogenesis*, **12**, 2393-2399 (1991)

(2000년 11월 2일 접수)