

구기자 추출성분의 항발암 효과 및 비타민 C 첨가에 의한 상승효과

박윤자 · 김미향 · 배송자[†]

신라대학교 식품영양학과

Enhancement of Anticarcinogenic Effect by Combination of *Lycii fructus* with Vitamin C

Yun-Ja Park, Mihyang Kim and Song-Ja Bae[†]

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

Abstract

We investigated the cytotoxicity effects of *Lycii fructus* (LF) on HePG2, Hela, MCF7 and C6 cell lines by the MTT assay. We extracted the methanol (LFM) and fractionated to five partition layers. Among partition layers, the ethylether partition layer (LFMEE) was showed the strongest cytotoxic effects on all cancer cell lines. The hexane partition layer (LFMH) also was showed significant cytotoxic activities on Hela and MCF-7 cell lines. We also determined the induction of intracellular quinone reductase (QR) activity on HepG2 cells. Among various partition layers of *Lycii fructus*; LFMH was showed the most effective QR induced effect such as 1.85 to the control value of 1.0. And we also determined the enhancement of anticarcinogenic effect by combination of *Lycii fructus* with vitamin C on all cell lines. These results suggest that potentially useful anticarcinogenic chemicals could be isolated from LFMEE and LFMH of the *Lycii fructus* and also we found the enhanced effect by the combination of various partition layers of LFM with vitamin C.

Key words: cytotoxicity, quinone reductase(QR), *Lycii fructus*, cancer cell lines

서 론

질병에 의한 사망 중에서 암은 심장질환 다음으로 높은 사망률을 나타내고 전 세계적으로 연간 800만명 이상이 암환자로 진단받고 있으며 그 중 약 50% 이상이 사망하는 것으로 보고되어 있다(1,2). 암 발생의 대부분은 거의 환경적 요인에 의해 일어난다고 보고되어 있으며(3), 이 중 30~60%가 식이와 연관성이 있다고 보고되어 있다(4,5). 암은 다른 모든 질병에서와 같이 치료보다는 예방을 함으로서 그 해결점을 찾는 것이 암의 고통으로부터 벗어나는 근본적인 방법이라 할 수 있으며, 이런 환경적 요인을 정확히 규명하고 조절할 수 있다면 암 발생의 50~80%를 상당히 낮출 수 있으리라 본다. 암의 병원적 치료 요법으로는 수술요법, 방사선 요법, 면역요법 및 유전자 요법 등을 사용하고 있으나(6,7), 수술요법, 방사선 요법은 국소적인 치료법이므로 한계성이 있고, 전신요법인 면역요법 또한 치료 방법이 정립되지 않은 상태이므로 이런 문제점을 해결하기 위하여 항암 효능이 우수한 새로운 천연 생리 활성 물질을 찾아냄으로서 영구적인 치료성이 있는 약물이 요구되고 있다(8-10). 이와 같은 암발생을 예방, 치료하기 위해 최근 인간이 섭취하는 식품이나 식물체로부터 생리 활성 기능을 나타내는 물질을 분리해내고, 각종 질병의 예방

이나 치료를 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히, 우리나라에서는 수종의 한약재(11)와 마늘(12), 인삼(13), 도라지(14) 등에서 항암 작용이 보고된 바 있으며 약 200여종의 한방생약제가 암환자에게 처방되고 있음이 통계적으로 밝혀져 있다.

한방에서 약용으로 많이 사용되고 있는 구기자(*Lycii fructus*)는 건강증진 목적으로 차로도 다량 음용되고 있으며, 가지과(Solanaceae)에 속하는 낙엽송 소관목인 구기자 나무(*Lycium chinensis*)의 생육한 과실로서 예로부터 약용으로 많이 애용되어 왔다. 구기자의 성분으로는 100 g당 당질 47%, 단백질 14.6%, 지방 10.7% 및 무기질, 비타민이 골고루 분포되어 있으며, choline 유도체인 betaine은 구기자에 0.1% 함유되어 있으며 약리 효과가 있는 것으로 밝혀져 있다(15,16). 구기자의 효능으로는 노화방지, 체력유지, cholesterol 수치 저하작용을 하며, 혈당치를 내리고 혈청 인지질 함량을 증가시키며, 특히 betaine은 혈관 확장과 장관에 대한 수축작용을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 구기자의 우수한 약리작용에도 불구하고 다른 생약재에 비해 연구 및 실용화 과정이 아직 미흡한 상태로 앞으로 유효성분을 밝혀 실용화 방안을 찾아내는 것이 필요하리라 본다.

본 연구에서는 구기자의 메탄올 추출물을 각 용매별로 5층의 분획물로 나누고, 각 분획물 일정량을 인체 암세포주에 첨

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

가함으로써 각 추출물의 암세포 증식 억제 효과(cytotoxicity)와 암예방 quinone reductase(QR)의 유도활성 효과를 비교 측정한 후, 가장 대표적인 항산화제인 비타민 C를 첨가함으로써 암세포 증식억제에 대한 상승효과를 비교, 측정하여 인체 암세포주에 미치는 각 용매 분획별 구기자 성분들의 암세포에 대한 생리활성 및 암예방 효과를 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 시료인 구기자는 부산 연산동 소재 한약방에서 구입하여 -70°C 에서 보관하였으며, 이 시료를 추출·분획하여 인체 암세포주에 대한 암세포 증식억제효과(cytotoxicity)와 quinone reductase(QR)유도 활성 물질 검색에 사용하였다.

암세포 증식억제 상승 효과를 실험하기 위해 첨가용 vitamin C를 Sigma사(St. Louis, USA)로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

시료로 사용한 구기자는 메탄올을 일정량 첨가하여 4시간 동안 2회 반복 추출하여 회전식 진공농축기로 감압 농축시킨 후 동결건조하여 methanol 추출물로 사용하였다. 이 메탄올 추출물을 다시 hexane(LFMH), ethylether(LFMEE), ethylacetate(LFMEA), butanol(LFMB) 및 수층(LFMA)의 순서로 각각 분획하고 각 분배층을 감압 농축하여 건조시킨 후 분말로 만들어 시료로 사용하였다.

암세포 배양

본 실험에 사용한 암세포주는 인체 간암 세포인 HepG2 (human hepatocellular cancer) 자궁경부암 세포인 HeLa (human cervix adenocarcinoma), 유방암세포인 MCF-7 (human breast adenocarcinoma, pleural effusion) 및 신경교종세포주인 C6(mouse glioma)로서 서울 의과대학교 한국세포주 은행으로부터 구입하였다.

HepG2, C6 세포주는 MEM medium에, HeLa와 MCF-7 세포주는 DMEM medium에 10% fetal bovine serum(FBS)과 1% 100 units/mL의 penicillin streptomycin이 함유된 것으로 상기 4종의 암세포(HepG2, HeLa, MCF-7, C6)를 일주일 2~3회 정도 새로운 배지로 교환하고 flask에 암세포가 5×10^4 cells/mL정도 증식되면 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0)으로 세척하고 trypsin-EDTA로 처리하여 바닥에서 세포를 분리한 후, 배양액으로 암세포가 골고루 분산 되도록 희석하여 T-75 flask에 10 mL씩 분할 주입하고 4~5 일마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

암세포 증식억제효과(cytotoxicity) 측정

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 분석법은 살아있는 세포내 미토콘드리아의

dehydrogenase에 의해서 생성되는 blue formazan을 spectrophotometer를 이용하여 측정함으로써 세포에 대한 증식억제를 조사하는 방법(17,18)으로 세포독성 여부 대량 검색이나 초기검색 단계에 많이 이용되고 있다.

본 연구에서는 각각의 인체 암세포주를 1×10^5 cells/well의 농도로 하여 24 well에 각각 1 mL씩 첨가하여 24시간 동안 37°C , 5% CO_2 incubator에 배양한 후 시료의 용매별 분획물을 각각 일정량의 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 100, 200, 300, 400 및 500 $\mu\text{g}/\text{well}$ 의 농도로 첨가하고, 48시간 동안 다시 배양하였다. 이 배양액에 MTT용액을 100 μL 씩 첨가하여 4시간 동안 다시 배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 흡수되지 않게 상등액을 제거한 후 DMSO와 ethanol을 1:1로 혼합한 용액 1 mL를 첨가하여 천천히 녹인 후 UV-spectrophotometer를 이용하여 570 nm와 690 nm에서 각각 측정하여 암세포 증식 억제효과를 비교 분석하였다.

그리고, 같은 방법으로 구기자의 각 분획물에 비타민 C 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 첨가하여 암세포에 대한 증식억제 상승효과 여부를 측정하였다.

Quinone reductase(QR) 유도 활성 측정

QR 생성 유도효과는 Prochaska와 Santomaria의 방법(19,20)을 일부 변형하여 측정하였다.

본 실험에서 사용된 HepG2 세포주를 24 well의 각 plate에 1×10^4 cells/mL가 되도록 분주하여, incubator에 24시간 동안 배양한 후 구기자 추출물을 DMSO에 녹여 농도별로 증가시키면서 첨가하고, 다시 24시간 동안 배양한 다음 배양액을 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 250 μL 의 lysis buffer를 첨가한 후 37°C , 5% CO_2 incubator에 10분간 두면서 cell lysis 하였다. 여기서 반응액을 최종 농도가 10 mM Tris-Cl (pH 7.4), 0.5 mg/mL BSA, 0.008% Tween-20, 40 μM glucose-6-phosphate, 2 U/mL glucose-6-phosphate dehydrogenase, 25 μM NADP, 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 및 1 mM menadione이 되도록 1 mL의 효소 용액을 첨가하여, 5분간 반응시킨 후, 반응 정지액인 10.3 mM dicumarol, 0.5% pyridine, 5 mM potassium phosphate(pH 7.4) 혼합액을 250 μL 씩 첨가하여 효소 반응을 정지시키고, UV-visible spectrophotometer를 이용하여 610 nm에서 흡광도를 측정하였다. 단백질량은 동일한 set의 cell plate에 대한 crystal violet 염색 방법으로 정량하였다. Quinone reductase 활성 측정(nmol/min/mg protein)은 다음과 같이 하였다.

* Specific quinone reductase (QR) activity

$$= \frac{\text{absorbance change of MTT/min}}{\text{absorbance of crystal violet}} \times 3345 \text{ nmol/mg}$$

결과 및 고찰

구기자의 methanol 추출물 및 분획물의 수율

구기자 250 g을 메탄올로 추출하여 81.4 g(32.6%)의 추출

물을 얻었다. 이 메탄올 추출물을 hexane(LFMH), ethylether (LFMEE), ethylacetate(LFMEA), butanol(LFMB) 및 수층 (LFMA)의 용매별로 분획하여 LFMH층은 3.3 g(4.1%), LF-MEE층은 0.4 g(0.4%), LFMEA층은 0.7 g(0.9%) 및 LFMB층은 24.6 g(30.2%)을 얻었고, 나머지 LFMA층은 52.4 g (64.4%)의 분획물을 얻었다.

*In vitro*에서 구기자의 암세포 증식억제 효과

구기자의 암세포 증식억제 효과를 규명하기 위해 MTT assay를 이용하여 인체 간암세포주인 HepG2, 자궁경부암 세포주인 HeLa, 유방암세포주인 MCF-7 및 신경교종세포주인 C6에 대한 암세포 증식억제 효과를 Fig. 1, 2, 3 및 4에 나타내었다.

Fig. 1에서 간암세포주인 HepG2에 구기자의 용매별 분획물 6종류의 각 층을 농도별로 증량시켜 가했을 때 ethylether 층(LFMEE)의 경우 첨가농도 400 µg/mL에서 약 87.3%의 억제효과를 보였으며, 다른 분획층의 경우보다 월등히 암세포 증식억제 효과가 컸다. 또 LFMH의 경우에서도 유의적인 증식억제 효과를 나타내었다. Fig. 2는 자궁경부암 세포주인 HeLa에 대한 결과로서, LFMEE를 400 µg/mL의 농도 가했을 때 95.0%의 높은 암세포 증식억제 효과가 나타났으며, 그 다음으로 LFMH의 경우에도 그 효과가 유의적이었다.

유방암세포주인 MCF-7에 대한 암세포 증식억제 효과 실험 결과는 Fig. 3에 나타내었으며, 이 결과에서는 LFMH의 경우 400 µg/mL에서 87.5%의 높은 효과가 나타났으며, 최종

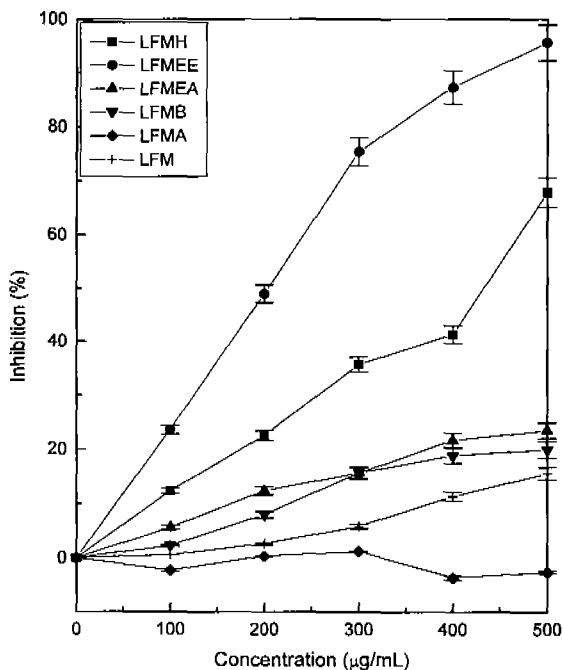


Fig. 1. Inhibitory effect on cell survival of the partition layer from methanol extract of *Lycii fructus* on HepG2 cells. LFMH: hexasne fr. LFMEE: ethylether fr. LFMEA: ethylacetate fr. LFMB: butanol fr. LFMA: aqueous fr. LFM: methanol ext.

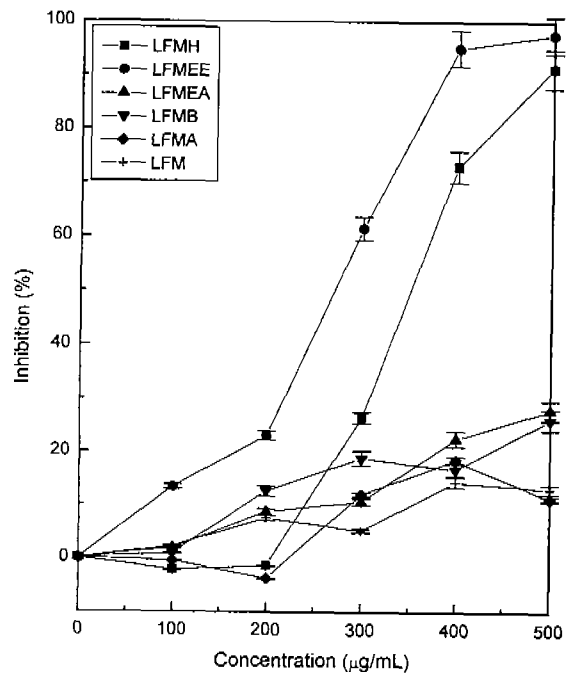


Fig. 2. Inhibitory effect on cell survival of the partition layer from methanol extract of *Lycii fructus* on HeLa cells.

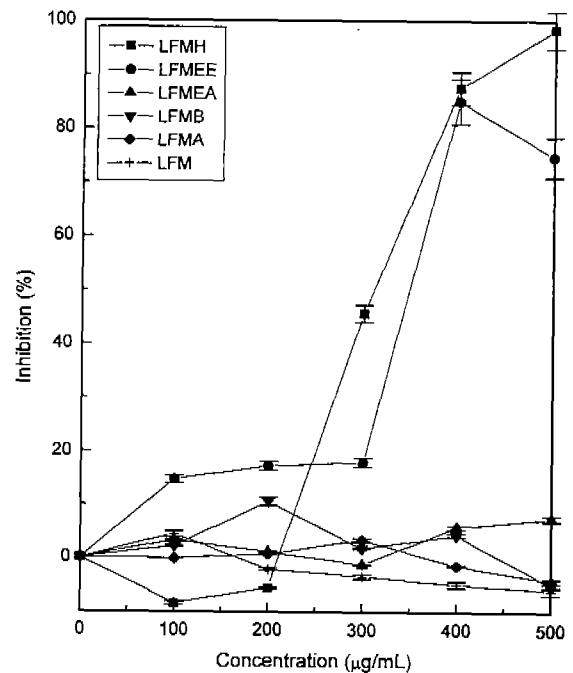


Fig. 3. Inhibitory effect on cell survival of the partition layer from methanol extract of *Lycii fructus* on MCF-7 cells.

농도인 500 µg/mL에서 98.3%로 가장 높은 억제 효과를 보였으며, LFMEE의 경우는 HepG2세포주의 결과와 비슷하였다. Fig. 4에 나타낸 신경교종세포주인 C6의 경우에서도 구기자 치료 300 µg/mL을 첨가시 이미 LFMEE의 경우 이미 89.1%의 높은 암세포 증식억제 효과를 나타냈으며, 농도 의존적으로 증식억제 효과가 계속됨을 볼 수 있었다. LFMEA와

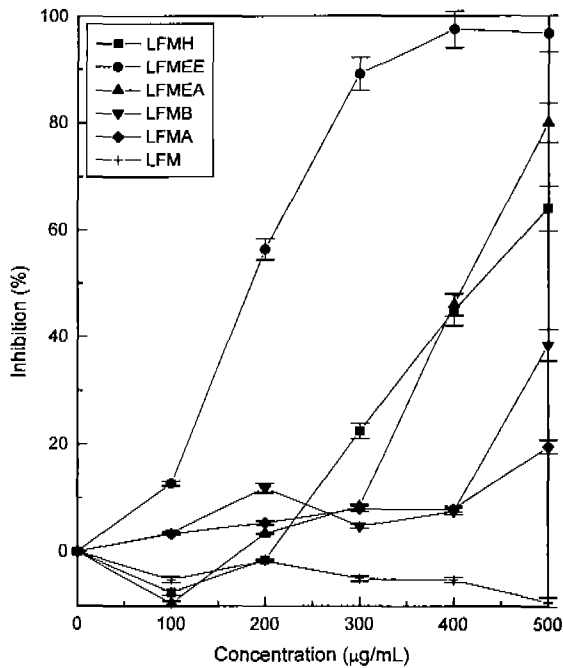


Fig. 4. Inhibitory effect on cell survival of the partition layer from methanol extract of *Lycii fructus* on C6 cells.

LFMH의 경우에서도 최종 농도인 500 µg/mL을 첨가했을 때 각각 80.1 % 및 63.9%로 유의적인 암세포 증식억제 효과가 나타났다.

위 결과를 종합하여 볼 때, 용매별로 분획한 6가지의 구기자의 분획물을 4가지 암세포주에 가한 결과 각 암세포주에 미치는 암세포 증식억제 효과는 구기자의 ethylether층(LF-MEE)에서 가장 높은 증식억제 효과가 나타났으며, 지방암 세포주인 MCF-7에서는 hexane층(LFMH)의 경우가 가장 높은 암세포 증식억제 효과를 나타냈다.

구기자, 비타민 C 및 혼합물에 대한 암세포 증식억제 상승효과

Table 1은 인체 암세포주(HeLa, MCF-7)에 농도별 증가에 따른 비타민 C 처리시의 암세포 증식억제 효과를 나타낸 결과로서, 비타민 C의 농도를 10, 20, 30, 40 및 50 µg/mL씩 각각 첨가하여 암세포 증식억제 효과를 본 결과, 40 µg/mL

Table 1. Antiproliferative activity of vitamin C against cancer cell lines, HeLa and MCF7

	Concentration (µg/mL)	Cell line	
		HeLa cells	MCF-7 cells
Vitamin C	0	100	100
	10	95.4	99.1
	20	89.1	92.5
	30	85.7	86.2
	40	12.4	26.3
	50	5.5	6.2

Standard deviations have been omitted for simplicity. All data were significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

첨가시부터 암세포 증식억제 효과가 나타나기 시작하여 최종 첨가 농도인 50 µg/mL에서는 HeLa 및 MCF-7에서 각각 94.5% 및 93.8%의 높은 암세포 증식억제 효과가 나타났다. 한편 본 연구에서는 구기자에 비타민 C의 암세포 증식억제 상승효과를 측정하기 위하여 거의 암세포 증식을 억제하지 않는 비타민 C의 농도인 20 µg/mL를 구기자의 각 분획물에 첨가하여 구기자의 각 분획물에 미치는 비타민 C의 암세포 증식억제 상승효과를 측정하였다.

Fig. 5는 인체 자궁경부암 세포주인 HeLa 세포주에 구기자 분획물 100, 200, 300, 400 및 500 µg/mL를 가하고 비타민 C를 20 µg/mL씩 첨가했을 때의 암세포 증식억제 상승효과를 본 결과로서, LFMA인 수층을 제외한 모든 층에서 아주 높은 암세포 증식억제 상승효과를 나타내었다. 즉, 구기자의 hexane 층인 LFMH의 경우, 시료 농도 300 µg/mL를 단독 첨가했을 때의 효과는 26.4%인데 반해 비타민 C를 20 µg/mL를 추가 첨가했을 때에는 82.7%의 높은 암세포 증식억제 상승효과가 나타났으며, ethylether층인 LFMEE의 경우 300 µg/mL 단독 첨가했을 때 61.5%의 암세포 성장 억제효과를 나타내었으나 비타민 C를 20 µg/mL 첨가했을 때에는 94.5%의 아주 높은 암세포 증식억제 효과가 나타났다. 그리고 구기자 첨가의 최종 농도인 500 µg/mL에서는, 단독인 경우 세포 증식억제 효과가 거의 나타나지 않은 ethylacetate층(LFMEA)과 butanol층(LFMB)에서도 비타민 C를 첨가하는 각각 98.7%와 91.2%의 높은 암세포 증식억제 상승효과가 나타났다. Fig. 6은 지방암 세포주인 MCF-7에 대하여 구기자의 농도별 각 분획물에 비타민 C 20 µg/mL를 첨가했을 때의 암세포 증식억제 효과를 나타낸 그림으로써 Fig. 5의 HeLa 세포주와 유사

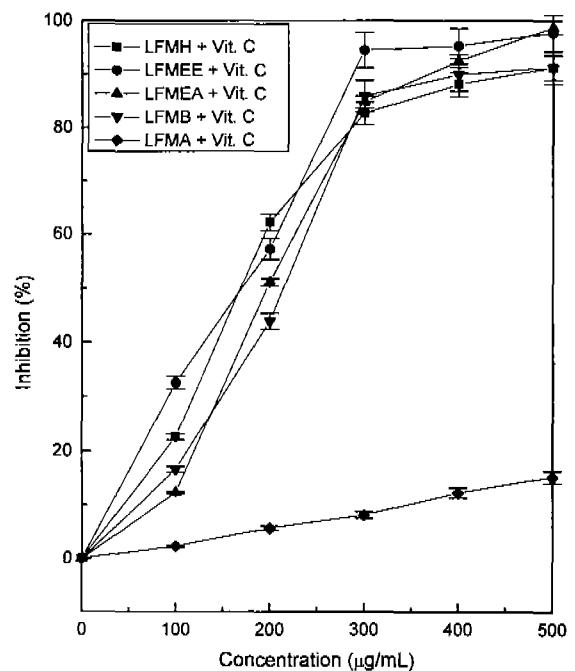


Fig. 5. Enhancement of cytotoxic effect by combination of *Lycii fructus* with vitamin C on HeLa cells.

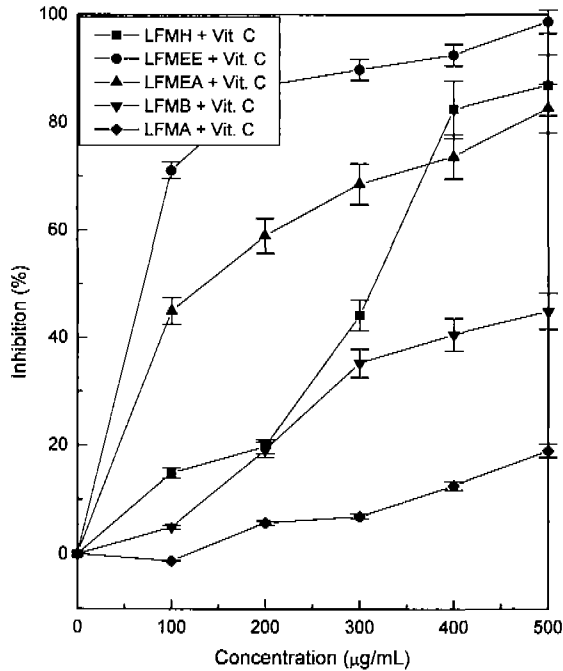


Fig. 6. Enhancement of cytotoxic effect by combination of *Lycii fructus* with vitamin C on MCF-7.

한 암세포 억제 상승효과가 나타났다.

즉, 구기자를 SSMEE 400 µg/mL 단독 처리시 85.0%의 암세포 증식억제 효과가 나타났으나, 비타민 C를 20 µg/mL 첨가시에는 92.6%의 암세포 성장저지 상승효과가 나타났다. 그러나 LFMA의 경우는 비타민 C 첨가 전과 첨가 후 거의 유사한 효과를 볼 수 없었다. 한편 구기자 단독 처리시 거의 효과가 없었던 LFMEA는 비타민 C 첨가에 의해 월등히 암세포 증식억제 효과가 증가되었으며, LFMH 및 LFMB의 경우에도 비타민 C에 의한 성장억제 상승효과를 확실히 볼 수 있었다. 이상의 결과, 구기자의 단독 처리보다는 구기자의 각 분획층에 거의 암세포 성장저지를 하지 않는 농도인 비타민 C를 20 µg/mL 첨가했을 때 암세포 증식 상승효과가 높게 나타났음을 본 연구를 통해 알 수 있었다.

Quinone reductase(QR) 유도 활성 효과

Quinone reductase는 phase II 해독 효소 중의 하나로 특징으로는 첫째, NAD(P)H를 전자 공여체로 이용하고 둘째, 2개의 전자를 이동시켜 semiquinone을 형성하지 않으며 셋째, dicoumarol과 같은 항혈액 응고제에 의해 강한 저해를 받으며 넷째, 많은 세포와 조직에서 여러 가지 외부 물질들에 의해 유도된다. 특히 phase II 해독 효소 중 암예방 물질 탐색의 지표가 되는 대표적인 효소로 선정된 이유는 quinone류 자체에 대한 보호효과가 있고 다른 암예방 효소계와 공통적으로 유도되며 항암 작용이 있는 많은 화합물에 의해 유도되어지기 때문이다.

암세포 증식억제 효과 실험에서 사용된 4종의 암세포 중 quinone reductase(QR)를 가지고 있는 인체 간암세포주인

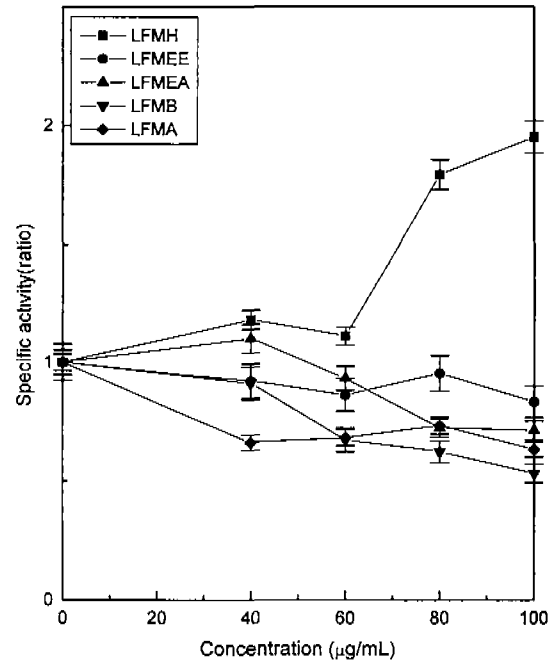


Fig. 7. Effect of the partition layers from methanol extract of *Lycii fructus* on the induction of quinone reductase in HepG2 cells.

HepG2를 사용하여 QR 생성 유도 활성을 측정한 결과는 Fig. 7에 나타내었다. 구기자의 분획물의 농도를 증가시키면서 40, 60, 80 및 100 µg/mL로 첨가하였을 때 hexane 분획층인 LFMH에서 높은 quinone reductase 효과가 나타났다. 즉 대조군을 1.0으로 하였을 때 LFMH의 경우 80 µg/mL에서 그 효과가 나타나기 시작하여 최종 농도인 100 µg/mL에서 1.85배의 높은 암예방 QR 유도효과가 나타났다.

요 약

에부터 약용 또는 식용으로 쓰였으며, 사람의 체질을 강하게 하고, 혈관연화, 콜레스테롤을 저하작용 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있는 구기자를 추출, 분획하여 4종의 암세포주(HepG2, HeLa, MCF-7, C6)를 이용하여 암세포 증식억제 실험을 한 결과, 4종의 암세포주 모두에서 구기자의 ethyl-ether층(LFMEE)이 아주 높은 암세포 증식억제 효과가 나타났으며, 특히 유방암세포주인 MCF 7에서도 hexane층(LFMH)에서 아주 높은 암세포 증식억제 효과가 나타났다. 한편, 인체 간암세포인 HepG2를 이용하여 quinone reductase 효소 유도 활성 여부를 측정한 결과 분획물 첨가농도 100 µg/mL에서 1.85배의 높은 효과가 나타났다. 구기자에 미치는 비타민 C의 암세포 성장억제 상승효과를 실험한 결과, 구기자와 비타민 C를 각각 혼합 처리시 낮은 농도에서도 아주 높은 암세포 증식억제 효과가 나타났다. 즉, HeLa와 MCF-7 암세포주에서는 정도의 차이는 있었으나, 구기자 성분과 비타민 C의 조합에 의해 암세포 증식이 억제 또는 사멸되는

상승효과가 나타났으며 본 연구에 사용한 2종류의 암세포주 모두 구기자과 비타민 C 혼합물의 투여로 인해 증식억제가 현저히 상승됨을 보여주었다. 본 실험을 통해, 구기자의 hexane층(LFMH)과 ethylether층(LFMEE)에서 높은 암세포 증식억제 효과와 암예방 효과가 있는 것으로 추정되며, 비타민 C 와 함께 첨가했을 때 낮은 농도의 첨가 시료에서도 높은 암세포 증식억제 상승효과가 나타났음을 알 수 있었다. 구기자의 항암 효과를 상승시키기 위해서는 비타민 C 일정량을 함께 첨가하는 것이 효과적임을 본 실험 결과를 통해 알 수 있었다.

문 헌

- Weinstein, I.B. : Cancer prevention : Recent progress and future opportunities. *Cancer Res.*, **51**, 5080-5085 (1991)
- Suzuki, H., Ishigaki, A. and Hara, Y. : Long-term effect of a trace amount of tea catechins with perilla oil on the plasma lipids in mice. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **68**, 272-274 (1998)
- Cooper, G.M. : *Elements of human cancer*. Jones and Bantlett publishers, Inc., Boston, p.31 (1992)
- Doll, R. and Peto, R. : The causes of cancer-Quantitative estimate of avoidable risks of cancer in the united states today. *J. Natl. Cancer Inst.*, **66**, 1191-1196 (1981)
- Rew, T.H. : Relation of food, nutrition and cancer. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **14**, 305-401 (1985)
- Wakabayashi, K., Nagao, M., Esumi, H. and Sugimura, T. : Food-derived mutagens and carcinogens. *Cancer Res.*, **52**, 2092-2096 (1992)
- Giampietri, A. : Drug-mediated increase of tumor immunogenicity *in vitro* from a new approach to experimental cancer immunotherapy. *Cancer Res.*, **41**, 681-687 (1981)
- Han, E.J., Roh, S.B. and Bae, S.J. : Effects of quinone reductase induction and cytotoxicity of the *Angelica radix* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 147-152 (2000)
- Han, E.J., Roh, S.B. and Bae, S.J. : Cytotoxicity of *Daucus carota* L. on various cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**, 153-160 (2000)
- Shim, S.M., Choi, S.W. and Bae, S.J. : Effects of *Punica granatum* L. fractions on quinone reductase induction and growth inhibition on several cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **30**, 80-85 (2001)
- Hwang, W.I., Lee, S.D. and Oh, S.K. : A study on the pharmacological activities of Korean medicinal herbs, mainly on the antitumor activities (in Korean). *Korean Biochem. J.*, **15**, 205-219 (1982)
- Sohn, H.E., Lee, J.Y., Kim, D.C. and Hwang, W.I. : Enhancement of anticancer activity by combination of garlic (*Allium sativum*) extract and vitamin C. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **30**, 372-376 (2001)
- Hwang, W.I. and Oh, S.K. : Effects of petroleum ether extract of ginseng root on same enzyme activity in human colon cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.*, **15**, 153-166 (1984)
- Kim, Y.S., Lee, B.E., Kim, K.J., Lee, Y.T., Cho, K.B. and Chung, Y.C. : Antitumor and immunomodulatory activities of the *P. grandiflorum* cultivated for more than 20 years. *Yakhak Hoeji*, **42**, 382-387 (1998)
- Choi, O.J. : *Component and using of medical plants*. Ilwoul-seogak, Seoul, p.632-634 (1999)
- The Korean society of nutrition : *Recommended dietary allowances for Koreans*. 7th revision (2000)
- Michael, C.A., Dominic, A.S., Anne, M., Miriam, L.H., Maciej, J.C., Donald, L.F., Betty, J.A., Joseph, G.M., Robert, H.S. and Michael, R.B. : Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.*, **48**, 589-601 (1988)
- Carmichael, J., De Graff, W.G., Gazder, A.F., Minna, J.D. and Mitchell, J.B. : Evaluation of a tetrazolium based semi-automated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, **47**, 936-942 (1987)
- 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)
- Park, H.J. : Induction of quinone reductase and its regulatory mechanism at the transcriptional level by *Scutellaria baicalensis*. *Ph.D. Dissertation*, Yonsei University (1998)

(2001년 11월 19일 접수; 2002년 1월 14일 채택)