

## 식용식물들이 MCF-7 cell의 chromosome형태에 미치는 영향

곽수영 · 정용자\*

경성대학교 약학과

### Effects of some edible plants on changing chromosomal morphology, and apoptosis of MCF-7 cell

Soo-Young Kwak and Yong-Za Chung\*

Department of Pharmacy, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

#### Abstract

*Equisetum arvense* L. and *Lactuca dentata* Makino. var. *Flaviflora* Makino. of samples relatively showed anticancer effects on MCF-7 mammary gland adenocarcinoma cell. The most active plant among the samples was *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill. We studied that MCF-7 cells were changing chromosomal morphology and apoptosis on these samples. *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill. of samples relatively showed good anticancer effects. The cells became vague after 2 days and then destroyed. The supernatant of the cells including medium was measured by UV absorbance. The results showed that *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill also exerted high level. We also used electrophoresis in order to observe apoptic characterization of DNA fragmentation. The cells treated with *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill showed the apoptotic characterization. The chromosome of the cells were observed on those samples. The cells treated with *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill among them were shown the fastest changes. The cells were aggregated and destroyed by treatment with some edible plants. Especially, the case of *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, it led MCF-7cell to apoptosis faster than others. And we can observe chromosomal changes and dispersion by PI staining. These results showed that each sample exerted anticancer effects on MCF-7 cells. Especially *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill exerted significant anticancer effects.

**Key words** – chromosome, PI staining, apoptosis

#### 서 론

식품을 통하여 섭취하고 있는 천연물질 중에는 발암물질 뿐 아니라, 항발암물질, 항종양물질, 항돌연변이물질과 같은 여러 조절물질들이 포함되어 있으며, 이에 대한 연구

보고들이 많이 있다[2,8,9,11]. 본 연구에서는 이러한 점에 착안하여 우리주변에서 항시 접하고있는 식용식물들을 선택하여 실험대상으로 삼아 MCF-7 세포 인 유방암세포에서 그 증식억제효과를 관찰해 보았다. 본 실험에 사용한 시료는 *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, *Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino, *Sedum sarmentosum* Bunge, *Perilla frutescens* Brit. var. *japonica* Hara, *Isodin japonicus* Hara, *Equisetum arvense* L., *Chrysanthemum coronarium* L.,

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel: 051-620-4887, Fax: 051-628-6540  
Email: yjjung@star.kyungsung.ac.kr

*Arctium lappa* L., *Cinnamomum camphora* 들이고, 이들이 MCF-7세포의 증식에 억제적으로 작용함을 발견하고 그 중 증식억제작용이 뚜렷한 것만을 골라 그 작용양상을 확인하기 위하여 형태학적관찰을 해보았다. 형태관찰을 위해 역상현미경을 이용하여 증식과 착상의 변화를 관찰하였다. 그리고 염색체의 변화를 관찰하기 위해 세포 파쇄분 DNA의 흡광도측정, DNA fragmentation 전기영동, chromosome preparation으로 chromosome의 banded appearance를 관찰하였으며 그리고 PI staining으로 Chromosome의 변화를 확인하였다. 그 결과에서 세포사의 유도촉진효과를 확인할 수 있었다.

## 재료 및 방법

### 재료

*Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaf, *Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino, *Equisetum arvense* L., *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, fruit unripen를 먼저 1차 증류수로 수회 세척하고, clean bench내에서 멸균한 3차 증류수로 2회 세척하여, 유발로 썰어 즙을 얻었다. 추출액을 0.45  $\mu$  cellulose acetate membrane filter로 여과시켜 시료로 사용하였다. 시료는 10 g당 추출물의 용량이 10 mL이 되게 했다. 실험대상세포를 배양하는데 FBS, trypsin., RPMI 1640배지를 사용하였다.

### DNA fragmentation 실험

MCF-7 cell을  $2 \times 10^5$ 개/mL 씩 되게 하여 배양 24시간 후에 배지를 조심스럽게 제거하고, 준비된 각각의 시료를 flask에 10  $\mu$ l/mL 씩 넣었다[5]. 9일 후까지 여기에 신선한 배지를 48시간마다 교환해주고, 그 때마다 상등액(세포 파쇄분)은 흡광도를 측정하여 비교하였다[3]. 그리고 전기영동을 위해서는 24시간 배양시킨 후에 배지를 조심스럽게 제거하고, 준비된 각각의 시료를 10  $\mu$ l/mL 씩 넣었다. 2일 후 배지를 제거하고, 0.05% trypsin-EDTA로 처리한 후 부유상태의 세포를 취하여 lysis buffer를 첨가하고 1시간 배양시킨다. 이것을 DNA분리침전법[1]에 따라 분리하여 침전물을 vacuum 하의 dessiccator에서 약 10분 정도 EtOH을 제거한다. 이렇게 만든 sample들에 TBE buffer와 pigment를 첨가하고, 이것을 1.2배 agarose gel의 well에 떠 넣어

전기영동 시킨 후 apoptosis의 정도를 비교 관찰하였다.

### Chromosome의 banded appearance

MCF-7 cell을 배양 24시간에(log phase) 배지를 조심스럽게 제거하고, 준비된 시료를 10  $\mu$ l/mL 씩 넣었다[7]. 여기에 신선한 배지를 첨가하고, 24시간, 40시간, 그리고 48시간 뒤에 colcemid를 추가하였다. 5시간 배양 후 배지를 제거하고 0.25 % trypsin을 첨가하였다. 10분간 배양 후 trypsin이 들어있는 세포를 원심분리하여 상등액을 제거하고, 저장액에 세포를 재현탁시켜, 36.5°C에서 15분간 방치시켰다. 그 뒤 신선한 ice-cold 초산·메탄올로 세포를 고정시켰다. ice에 10분간 방치한 뒤, 원심분리하여 초산·메탄올을 버리고, 신선한 초산·메탄올에 세포를 재현탁하고, 세포 현탁액을 한 방울 떨어내어 cold slide에 놓고 고정시켰다[4]. 그리고 Giemsa로 염색하여 1000X에서 염색체변화양상을 관찰하였다.

### PI 염색 후의 관찰

상기와 동일방법으로 배양된 세포를 Trypsin 처리하여 세포를 취하고 70% ethanol을 첨가하여, 4°C에서 60분 고정한다. PBS로 재현탁하여, RNase (250  $\mu$ g/mL) 첨가하고, propidium iodide (PI, 25  $\mu$ g/mL)로 염색하여 25°C에서 15분간 반응시켜형광현미경하에서 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

MCF-7 cell에서의 세포사과정을 확인하기 위하여 *Capsicum annuum*, *Lactuca dentata* Makino., *Equisetum arvense*를 시료로 하여 세포의 성장 및 착상과정에서의 형태변화를 확인한 후[6] chromosome의 형태변화를 관찰해 보았다. chromosome을 관찰하기위해 세포파쇄분 DNA의 흡광도측정, DNA fragmentation 전기영동, Chromosome의 condensation, PI염색에서의 핵 변화를 확인하였다.

### Chromosome과 DNA fragmentation 관찰

#### DNA fragmentation 관찰

시료를 첨가하고 24시간 배양한 세포에서 분리한 DNA를 전기영동으로 관찰해 보면 세포사에 의한 DNA fragmentation이 관찰되고, *Capsicum annuum* L. var. *angulosum*

Mill, fruit unripen 추출물을 시료로 첨가한 세포에서는 DNA band가 특히 약하게 관찰되었다(Fig. 2). 그리고 배양중의 부유층을 260 nm 흡광도법으로 측정된 값은 2, 4, 6, 9일 배양하여 얻은 결과이며, *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaf 추출물을 시료로 사용한 암세포에서는 배양초기부터 부유층의 흡광도가 높게 나타났다(Fig. 1). *Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino 첨가배지에서는 배양 24시간에 부유층의 흡광도가 control과 비슷하고

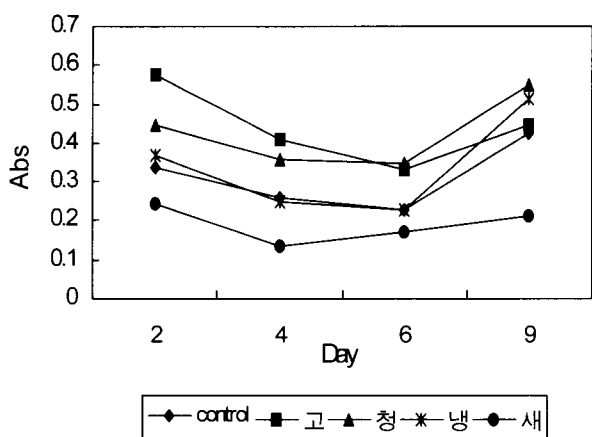
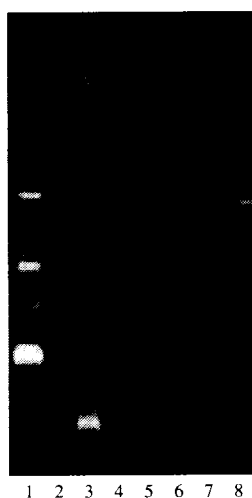


Fig. 1. Absorbance of culture supernatant treated with each sample. they were cultured during 9 day. 고; *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaf, 청; *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, fruit unripen, 냉; *Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino, 새; *Equisetum arvense* L.



1. Marker (DNA 100 base)
2. Marker (DNA 100 base)
3. control
4. *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaf,
5. *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, fruit unripen
6. *Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino,
7. *Equisetum arvense* L.
8. i

Fig. 2. Electrophoresis of cells' DNA fragmentation treated with each sample. They were cultured for 24 hours.

배양 6일 이후에 부유층의 DNA 흡광도가 높아졌고 배양후 기인 9일에 그 부유층의 흡광도가 높게 관찰되었다. *Equisetum arvense* L. 첨가시에는 흡광도의 값이 현저한 감소현상을 보인다 그러나 MCF-7 cell에 대한 증식억제효과는 실험에 사용된 다른 시료보다 낮은 것으로 보아 이는 단백질 응집 또는 세포독성으로 인한 부착일 가능성이 보이며 그 외 어떤 이유 때문에 성장을 직접적으로 억제하는 것이 아닌가 사료된다(비교값. Table 1).

DNA fragmentation의 전기영동에 의한 결과에서도 이들 시료에서 band가 약하게 관찰되었고 *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill에서는 거의 관찰되지 않았다. 이 결과에서는 세포사의 특징적인 band로 결정하기에는 미흡하나 핵의 소실(세포사)은 확인 할 수 있었다.

#### Chromosome의 banded appearance

세포에 각각의 시료를 첨가한 후, 24시간, 40시간, 48시간 뒤에 chromosome 형태변화를 관찰했다. Fig. 3a.는 정상적인 배지에서 시료첨가 없이 배양한 세포의 chromosome을 관찰한 것인데, 24시간 경과한 후나 40시간, 48시간 뒤가 별로 차이가 없었다. 그러나, Fig. 3b.에서 보듯이 *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaf 추출물을 첨가한 경우는, 24시간 경과 후에 chromosome은 변화되어 흩어져 보였고, 27시간에는 파쇄되었다. Fig. 3c.는 *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, fruit unripen 추출물을 첨가한 경우로서, 24시간에 변형된 것과 정상인 것이 모두 관찰되었으며, 40시간 뒤엔 chromosome이 그 길이가 늘어나고 전체적으로 느슨하게 보였고, 48시간 뒤엔 많이

Table 1. The ratio of the absorbances of DNA at 260 nm in upper layer medium. We cultured MCF-7 cells in the medium added each sample on 2, 4, 6, 9 days

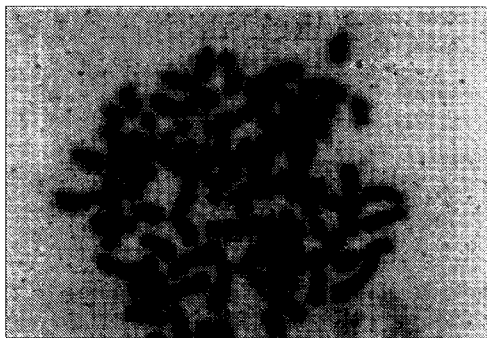
sample	1*	2*	3*	4*
time				
2	1.71	1.33	1.09	0.72
4	1.57	1.36	0.86	0.52
6	1.45	1.52	1.00	0.74
9	1.05	1.30	1.21	0.50

control = 1

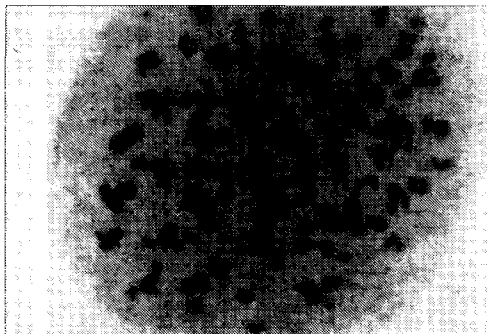
\*1. *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaf, 2. *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, fruit unripen, 3. *Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino, 4. *Equisetum arvense* L.,



a



b

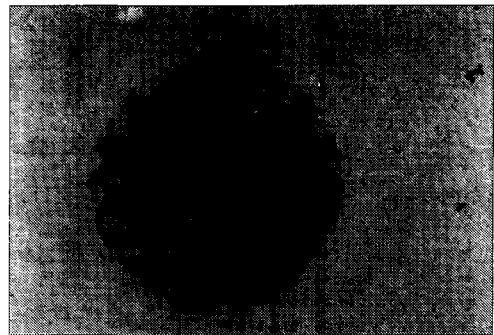


c

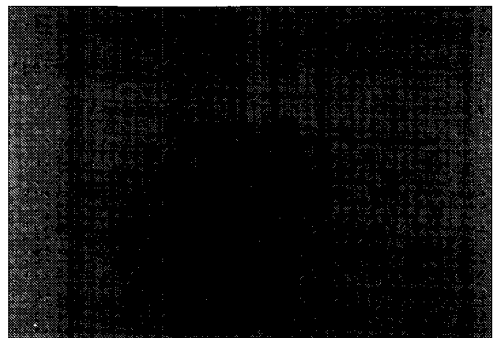
Fig. 3a. The chromosomal states. The  $4 \times 10^3 / \text{ml}$  normal MCF-7 cells were added to the medium in 25  $\text{cm}^2$  canted neck flask.  
a) 24 hours b) 40 hours c) 48 hours.

흩어져 보였다.

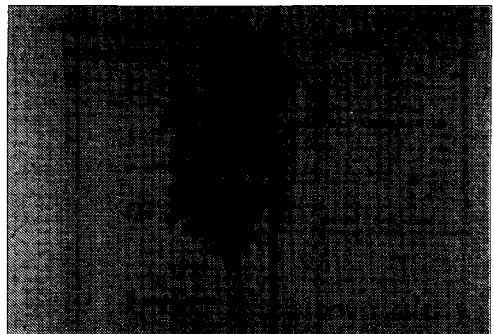
*Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino추출물을 첨가한 경우는 Fig. 3d.에서 보여지듯이, 24시간 후부터 약간 응집되는 것처럼 보이면서, 40시간 후에는 응집이 관찰되었고, 48시간 후에는 확실히 응집되었다. Fig. 3e.는 *Equisetum arvense* L.를 첨가한 경우인데, 24시간, 40시간에 크게 변화가 없었으며, 48시간에는 일부 응집되고 파쇄되었다(Table



a



b



c

Fig. 3b. The chromosomal states. The  $4 \times 10^3 / \text{ml}$  MCF-7 cells were added to the medium with *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, Leaf in 25  $\text{cm}^2$  canted neck flask.  
a) 24 hours, it seems to be scattered. b) 27 hours, destroyed. c) 48 hours, destroyed and aggregated.

2). *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaf추출물을 첨가한 경우는, 37시간 경과 후에 chromosome이 농축되어 있는 것처럼 보였다. 40시간이 경과한 뒤의 chromosome은 그 길이가 늘어나 전체적으로 느슨하게 보였다. 이는 37시간 전후와 40시간 이후의 그 변화양상이 달라지는 것으로

Table 2. Morphological changes of chromosome of MCF-7 cell.

sample time	Appearance of banded chromosome				sample time	Observation of nucleus by PI staining			
	1*	2*	3*	4*		1*	2*	3*	4*
24 (27)	scattered (destroyed)	a little dispersion	a little changed	not changed	6	We can see some spots.	normal	normal	normal
40		loosed form	concentrated	not changed	24	some destroyed	almost normal	nearly normal	normal
48		scattered	very concentrated	loosed form	48		destroyed	a little destroyed	almost normal
					72			destroyed	destroyed

\*1. *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaf, 2. *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, fruit unripen, 3. *Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino, 4. *Equisetum arvense* L.,

보이는데 이에 대해서는 앞으로 더 깊은 연구가 필요하다고 생각된다.

PI염색법에 의한 관찰

Propidium iodide (PI)는 형광염색시료로서세포내 DNA content에 따라 결합하며 apoptotic nuclei의 경우 그 강도가 낮은 것을 이용하여 세포사를 관찰할 수 있다[10]. 세포에 각각의 시료를 첨가한 후, 6시간, 24시간, 48시간, 72시간 뒤에 PI로 염색하여 세포의 형태를 관찰하였다. 시료를 넣지 않은 cell의 형태는 시간에 따라 별로 차이를 보이지 않았다. 반면, 시료를 첨가한 후 관찰했을 때는 핵의 파쇄 현상을 관찰할 수 있었다. Fig. 4a는 정상적인 배지에서 배양한 MCF-7 cell을 관찰한 것으로서 핵의 변형이 없는 것으로 나타났다. Fig. 4b는 *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaf에서 시료를 첨가하고 배양 6시간에서 MCF-7 cell은 조금 파쇄되기 시작했으며 24시간에는 거의 대부분이 파쇄되었다. Fig. 4c *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, fruit unripen의 경우는 6시간과 24시간에서는 핵내 구조변화는 관찰되지만 핵의 파쇄는 관찰되지 않았으나 48시간 후에는 많이 파쇄되었다. Fig. 4d는 *Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino추출물을 첨가한 경우이며, 6시간과 24시간에서는 핵의 변형이 없었고 48시간 후부터 약간 파괴되기 시작하여 72시간 후에는 다소 파괴되었다. Fig. 4e는 *Equisetum arvense* L. 추출물을 첨가한 경우로서, 6시간, 24시간, 그리고 48시간에는 핵의 일부변형

만이 관찰될 뿐 변형이 없었으며 72시간 후에 파쇄가 관찰되었다. 이 실험의 관찰에서도 모든 시료가 MCF-7 mammary gland adenocarcinoma cell에 대해 항증식 효과를 나타냈으나, 특히 고추잎이 다른 시료들에 비해 훨씬 빨리 핵의 변형과 파괴를 유도한다는 것을 관찰할 수 있었다.

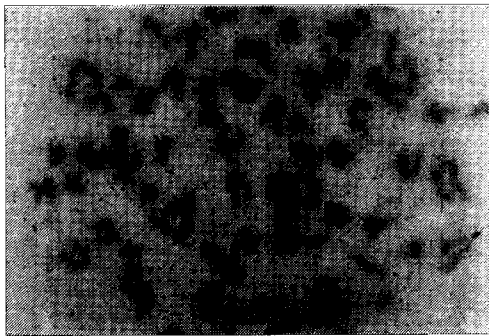
이상의 실험으로 관찰된 결과는 Table 2와 같다. 그리고 *Lactuca dentata* Makino를 시료로 한 실험에서 부유층의 DNA흡광도가 배양 6일 이후에 높게 관찰(Fig. 1) 되는 것으로 보아 계속된 실험을 요하겠지만, 간접적인 대사조정이 세포파괴에 관여하는 것이 아닌가 의문된다.

이상의 방법들에서 정도의 차이는 있으나 모두 염색체 분해에 의한 세포사의 과정에 따라 암세포의 성장이 저해되고 있음이 확인되었으며 이 후 성분 분리와 세포사과정의 기전을 밝힐 만한 가치가 있다고 사료된다.

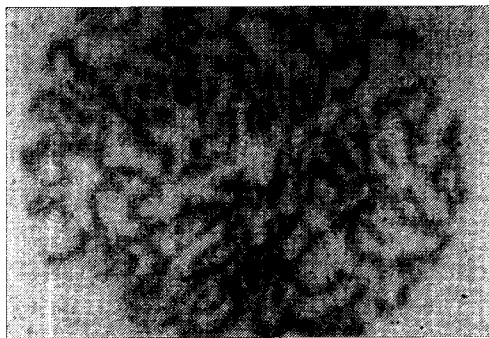
요 약

*Capsicum annuum*, *Lactuca dentata* Makino., *Equisetum arvense*, 들의 MCF-7 mammary gland adenocarcinoma cell line에서의 항증식효과는 현미경관찰과 세포수 관찰에서 얻은 결과와 거의 동일하게 Chromosome의 condensation, PI염색에서의 핵 변화, 전기영동과 흡광도법을 이용하여 관찰된 세포의 DNA fragmentation 결과에서도 시료에 따른 항증양증식억제효과가 유사하게 관찰되었다. 즉 그 결과는 *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, leaves

식용식물들이 MCF-7 cell의 chromosome형태에 미치는 영향



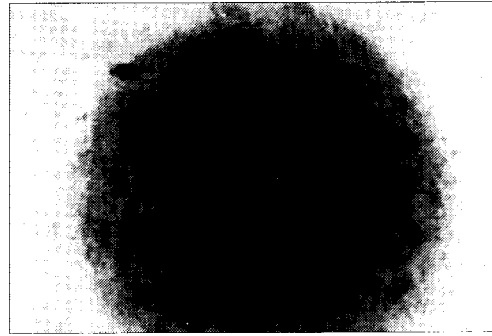
a



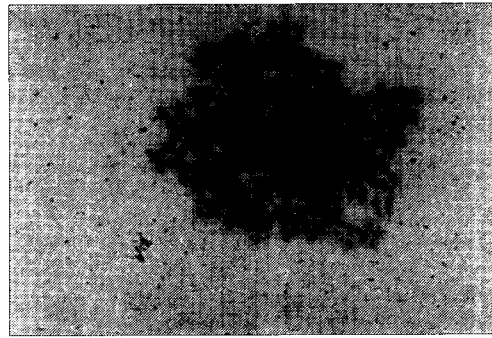
b



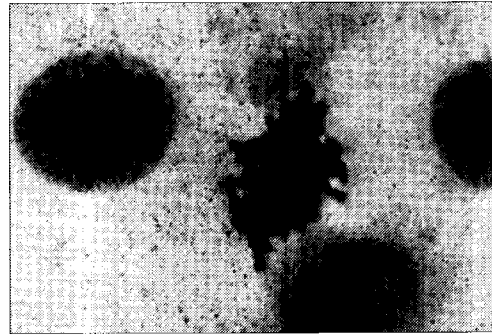
c



a



b



c

Fig. 3c. The chromosomal states. The  $4 \times 10^3/ml$  MCF-7 cells were added to the medium with *Capsicum annuum L. var. angulosum Mill, fruit unripen* in 25 cm<sup>3</sup> canted neck flask.

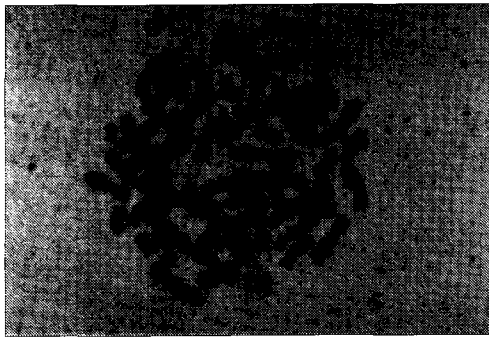
a) 24 hours, both normal form and exchanged form were showed. b) 40 hours, chromosome with loose form. c) 48 hours, they seem to be scattered.

추출시료를 첨가한 경우에는 세포증식을 위한 착상조차도 제대로 되지 않음이 확인되었고, 세포변형과 apoptosis의 일부가 2~3일후 부터 관찰되었다. chromosome 농축현상도 시료첨가 37시간에 관찰되었고, PI염색법에서도 시료첨가 3시간에 핵 농축현상이 관찰되기 시작하였다.

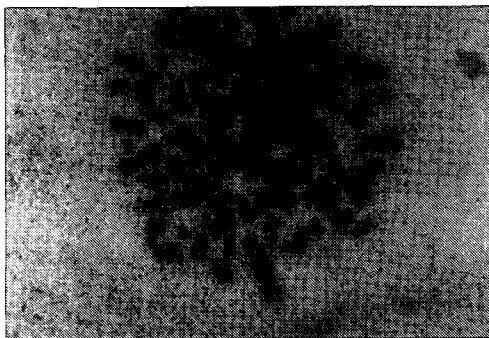
Fig. 3d. The chromosomal states. The  $4 \times 10^3/ml$  MCF-7 cells were added to the medium with *Lactuca dentata Makino. var. flaviflora Makino* in 25 cm<sup>3</sup> canted neck flask.

a) 24 hours, a little seems to be concentrated. b) 40 hours, they were concentrated. c) 48 hours, they were very concentrated.

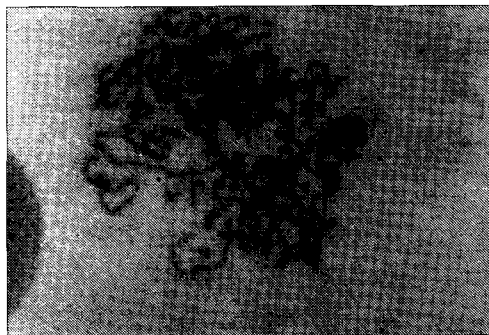
그 핵 농축현상은 배양시간에 따라 농축현상이 더해가다가 48시간에 과쇄현상을 보였다. 이 실험결과에서 *Capsicum annuum L. var. angulosum Mill* 추출물을 첨가한 배지의 MCF-7cell은 apoptosis의 형태학적 특징인 chromosome의 degradation과 PI염색법에서 핵의 농축이 발견되었으며



a



b

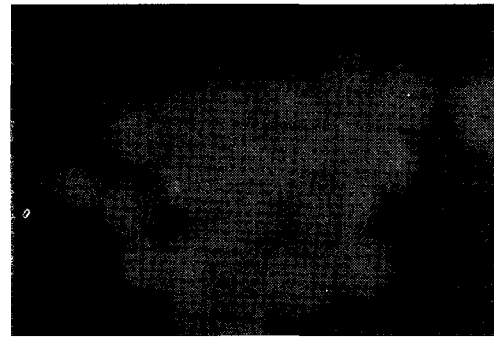


c

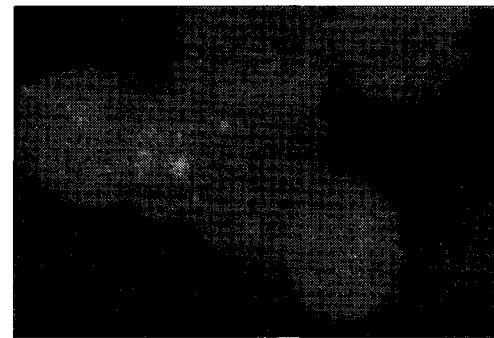
Fig. 3e. The chromosomal states. The  $4 \times 10^3 / \text{ml}$  MCF-7 cells were added to the medium with *Equisetum arvense* L. in 25  $\text{cm}^2$  canted neck flask.

a) 24 hours, they did not exchanged. b) 40 hours, they did not exchanged. c) 48 hours, some concentrated and destroyed.

48시간 뒤 핵과편들을 관찰할 수 있었다. 전기영동을 이용한 세포의 DNA fragmentation 관찰에서도 염색체 DNA의 관찰이 거의 확인되지 않았다. 260 nm 흡광도 측정으로 부유층의 흡광도를 측정한 결과에서도 *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill은 배양초기부터 부유층의 흡광도가 높게 나타났다. 이들의 결과에서 *Capsicum annuum* L. var.



a



b

Fig. 4a. The chromosomal states by PI staining. The  $4 \times 10^3 / \text{mL}$  MCF-7 cells were added to the medium in 25  $\text{cm}^2$  canted neck flask, and then examined.

Fig. 4b. The chromosomal states by PI staining. The  $4 \times 10^3 / \text{ml}$  MCF-7 cells were added to the medium with *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, Leaf in 25  $\text{cm}^2$  canted neck flask, and then examined.

a) 6 hours, some destroyed. b) 24 hours, they were cell debris.

*angulosum* Mill은 MCF-7 cell의 세포사를 유도하여 강한 항암효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

*Equisetum arvense* L와 *Lactuca dentata* Makino. var.

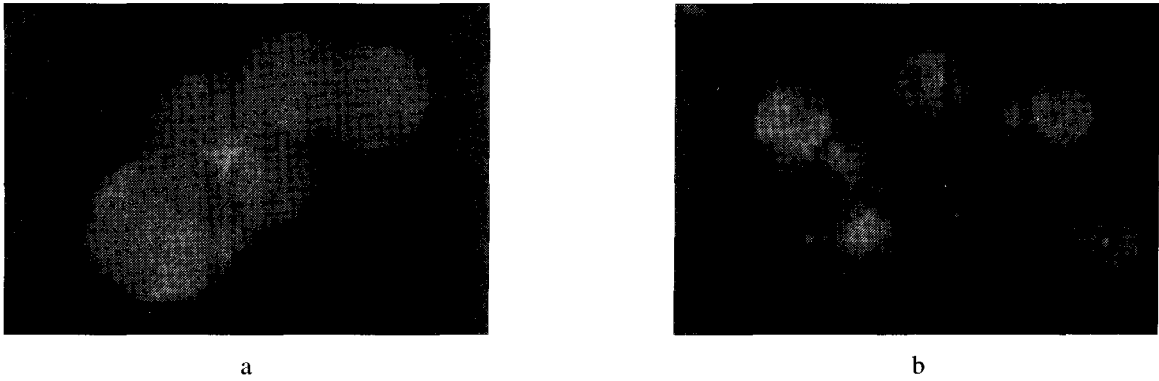


Fig. 4c. The chromosomal states by PI staining. The  $4 \times 10^3/\text{mL}$  MCF-7 cells were added to the medium with *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill, fruit unripen in 25 cm<sup>3</sup> canted neck flask, and then examined. a) 24 hours, they seem to be nearly normal. b) 48 hours, almost destroyed.

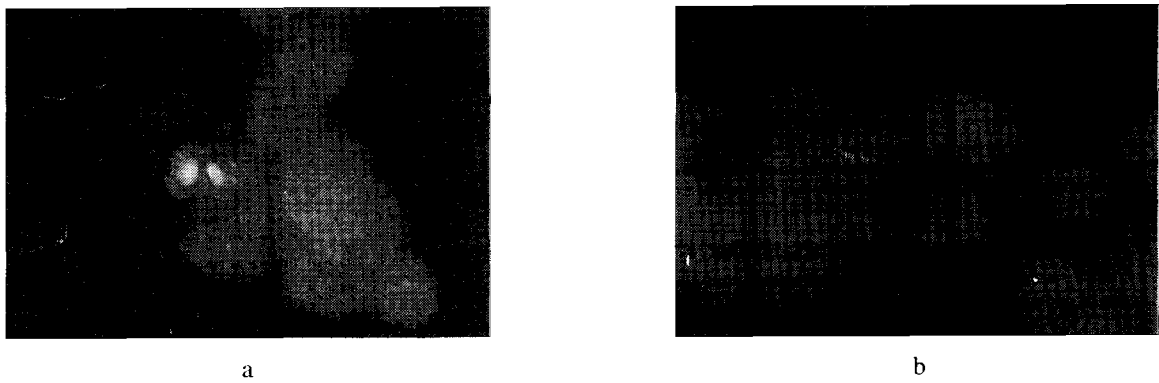


Fig. 4d. The chromosomal states by PI staining. The  $4 \times 10^3/\text{mL}$  MCF-7 cells were added to the medium with *Lactuca dentata* Makino. var. *flaviflora* Makino in 25 cm<sup>3</sup> canted neck flask, and then examined. a) 48 hours, some destroyed. b) 72 hours, many of them destroyed.

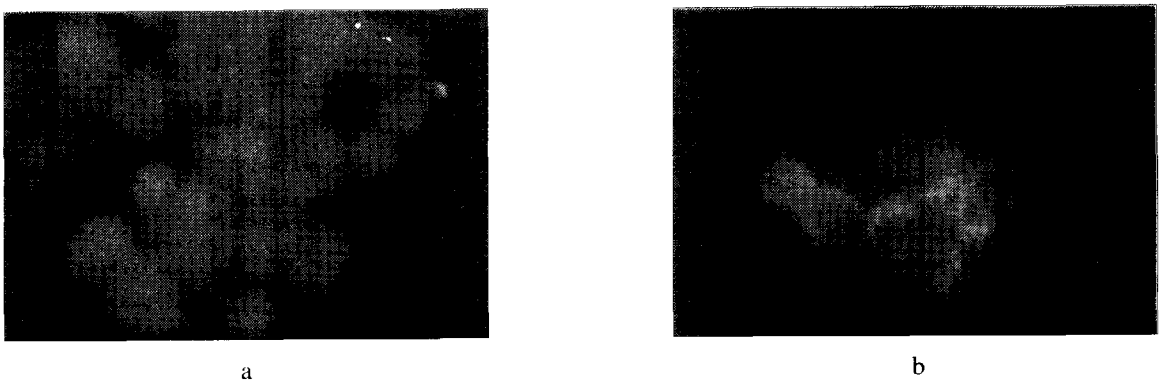


Fig. 4e. The chromosomal states by PI staining. The  $4 \times 10^3/\text{mL}$  MCF-7 cells were added to the medium with *Equisetum arvense* L. in 25 cm<sup>3</sup> canted neck flask, and then examined. a) 48 hours, they seem to be almost normal. b) 72 hours, many of them destroyed.



*flaviflora Makino*에서도 배양 2~3일에 세포성장이 억제되고 2일에 chromosome의 condensation과 degradation이 관찰되었다. 이상의 결과로부터 *Capsicum annuum*, *Lactuca dentata Makino*, *Equisetum arvense* 추출물에서 모두 항암효과를 관찰할 수 있었다.

### 감사의 말씀

본 연구는 2000년도 경성대학교 교비연구비에 의해 수행되었으므로 이에 감사를 드립니다.

### 참고 문헌

1. Ausubel, F. M., R. Brent, R. E. Kingston, D. O. Moore, J. G. Seidman, J. A. Smith and K. Struhl. 1987. Current protocols in molecular biology. PP. 2.2.1-2.2.2, HarvardMed. School, Wiley Interscience.
2. Bio Bran. 1996. A Modified Arabinosylane Compound from Rice Bran: Annual Meeting the American Association for Cancer Research. April 20-24
3. Choinski, J. S. 1992. Exp. Cell and Molecular biology. WBC, 41-47.
4. Freshney, R. I. 1987. Culture of animal cells-A man-

- ual of basic Technique. PP. 175-180, Alan R. Liss Inc., New York.
5. Gey, G. O., W. D. Coffman and M. T. Kubicek. 1952. Tissue culture studies of the proliferative capacity of Cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer Res.* **12**, 364-365.
6. Korsmeyer, S. J. 1992. Bcl-2: An antidote to programmed cell death. *Cancer surveys* **14**, 105-118.
7. Mizrahi, A. 1986. Biologicals from animal cells in culture. *Bio. Technology* **4**, 123-128.
8. Pollock, R. E., R. C. Bast, D. W. Kufe, R. R. Weichselbaum, J. F. Holland, and E. Frei. 2000. Cancer Medicine. BC Decker Inc., Canada.
9. Wall, M. E., M. C. Wani, G. Manikumar, H. Taylor, T. J. Hughes and K. Gaetano. 1989. Plant antimutagenic agents, Structure and antimutagenic properties of cymobarbataol and 4-isocyamobarbatol, new cymopols from green alga (*cymopollia barbata*). *J. Nat. Prod.* **52**, 1092-1099.
10. Watson R. W., K. R. McEleny, R. N. Coffey, A. J. O'Neill and J. M. Fitzpatrick. 2002. Inhibitors of apoptosis prostate cancer cell lines. *Prostate.* **51**, 133-140.
11. Wattenberg, L. W. 1983. Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. *Cancer Res.* **43**, 2448-2453.

(Received, April 15, 2002; Accepted, June 20, 2002)