Korean J. Food & Nutr. Vol. 15. No. 1, 36~41 (2002)

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION
한국식품영양학회

# 고삼 추출물을 이용한 해독물질의 개발

양희태† · 정승일* · 이영철** · 윤경아*** · 백승화*

대전보건대학 식품영양과, ***임상병리과,
*원광대학교 한의학전문대학원 천연자원개발학과
**충남대학교 의과대학 생화학교실

# Development of Antitoxic Agents from *Sophora flavescens* Ait.

Hee-Tae Young†, Seung-Il Jung*, Young-Chul Lee**, Kyung-Ah Yun*** and Seung-Hwa Baek*

*Department of Food and Nutrition, Department of ***Clinical Pathology, Daejeon Health Science College, Daejeon, Korea*
*Department of *Herbal Resource Development, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan, Korea*
*Department of **Biochemistry, College of Medicine, Chungnam National University, Daejeon, Korea*

## Abstract

The aim of this study was to assess the antitoxic compounds, flavanones(Leachianone A=LA and Sophoraflavanone G=SFG), from *Sophora flavescens*(*S. flavescens*). We investigated the possibility of antitoxicity of LA and SFG against NIH 3T3 fibroblasts cell lines using colorimetric MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl -2H-tetra-azolium bromide] assay.

The results were as follows :

After cadmium was treated against NIH 3T3 cell lines, we determined $IC_{50}$. Accordingly we have examined the detoxification effects of *S. flavescens*, LA and SFG under cadmium $IC_{50}$=12.5 $\mu$M and was carried out to observe morphological changes by the light microscopic study. In NIH 3T3 cells, *Sophora flavescens*, LA, SFG and LA + SFG showed inhibitory effects on the cytotoxicity of cadmium and these detoxication effects increased in proportion to the concentration of these drugs.

These results suggest that LA and SFG from *S. flavescens* retain a potential antitoxic activity.

Key words : antitoxic agent, MTT assay, Sophoraflavanone G, Leachianone A, *Sophora flavescens*.

## 서 론

고도의 경제성장으로 인한 풍요로 식생활 양상과 식품산업, 외식산업 등이 발달되어 다양한 종류의 음식들을 접하게 되어 보다 좋은 건강식품과 기능성 식품 등의 수요 증가로 공장에서 대량생산화가 모색되고 있다.[1] 그 때문에 최근에는 농작물의 재배, 가공, 유통과정에 상당량의 농약 등의 오염 요인으로 오염된 음식의 섭취로 여러 종류의 질병이 유발하고 있다. 그 중에서도 중금속은 인간의 몸에 축척되어 amino acid의 side chain에 높은 친화력이 있어 결합하므로서 효소의 작용을 억제하고, cofactors, vitamine 및 substract와 결합한 중금속은 간접적으로 세포구성 물질의 이용도를 변화시키며, 필수금속과 유사한 중금속이 필수금속과 대체되어 생체내 복잡한 과정을 변화시키며, 생체내 금속 물질의 불균형을 초래하여 독성을 나타내는 것으로 알려져 있다.[2,3] 카드뮴과 같은 일부 유독성 중금속은 비교적 낮은 농도에서도 체조직

† Corresponding author : Hee-Tae Young

과 반응하여 체내에 서서히 독작용을 나타내고 그 생물학적 반감기가 길어 일단 중독이 되면 완치가 불가능하기 때문에 특히 문제가 되고 있는데, 이중 카드뮴은 체내에서 10~30년의 긴 생물학적 반감기를 가지고 있으므로 먹이 연쇄에 의하여 계속 축적되고, 이에 따라 그 독성도 누적된다. 그러므로 일반적인 사람은 출생시에는 인체내에 카드뮴이 존재하지 않지만 연령이 증가함에 따라 점차적으로 체내에 축적되어 60년 정도를 사는 동안 약 20~30mg의 카드뮴이 인체내에 축적되고, 체내 카드뮴 총 축적량의 50~80%가 간장과 신장에 존재한다.[4~8] 최근에 중금속 해독물질로 사용되고 있는 BAL이나 EDTA 등은 신장에 손상을 주는 등 2차적인 독성을 유발하는 물질로 문제가 되고 있어[9] 자연계에 존재하는 식물이나 생물을 이용한 중금속 흡착연구가 활발히 진행되고 있는데 그 중에서도 다량 존재하는 폴리페놀계 화합물인 난닌성분이 금속 이온과 착염에 의하여 결합에 기인하는 것으로 알려지고 있다.[10]

이러한 경향은 flavonoid의 일종인 감귤과피로부터 분리한 hesperidin을 섭취하였을 때 카드뮴 독성을 완화시켰다는 연구가 보고되었으며, flavonoid는 hydroxyl 치환기의 위치와 고리계(ring system)의 전자적 성질에 따라 전이금속에 대한 좋은 배위자(ligand)가 될 수 있어 구리, 아연, 철분이온 등에 강한 친화력을 갖게 된다. 위와 같은 연구결과들로 보아 다양한 종류의 flavonoids를 함유된 것으로 보고된 고삼에서 중금속 해독효과가 있을 것으로 추측되어 실험하였다. 고삼(苦蔘, *Sophora flavescens* Ait)은 콩과(Leguminosae)에 속하며 다년초로 산지는 우리 나라와 중국, 일본 등지이며 특이한 냄새가 있고 맛은 매우 쓰며 산류성있고 한방에서는 이뇨, 이질, 해열, 습진, 위출혈 등에 쓰인다. 성분으로는 수종의 quinolizidine, alkaloid, flavonoid, saponin 등이 보고되어 있다.[11~13] 본 연구에서는 고삼 메탄올 추출물로부터 Leachianone A와 Sophoraflavanone G의 flavonoids를 분리하여 카드뮴에 대한 방어효과를 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 연구에 사용한 고삼 뿌리는 원광대학교 한의과대학에서 구입하여 외부형태를 비교 조사하여 확인 후 사용하였다. 실험에 사용된 식물체는 원광대학교 한의학전문대학원 천연물화학교실에 보관되어 있으며, MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 시약은 Sigma Chemical Co.,(USA)에서 구입하였으며, 그 외의 시약은 특급의 것을 사용하였다.

### 2. 기 기

UV spectrum은 Hewlett Packrad (Model HP 8453A)사, IR은 Jasco (Model FT/IR 5300)사, NMR은 JEOL-ECP (500 MHz)을 사용하였다.

### 3. 추출 및 분리

고삼뿌리 20g을 실온에서 MeOH로 24시간씩 3회 반복 추출하고 감압농축 MeOH extract하여 4g을 얻었다. 이 추출물을 $C_{18}$ column chromatography를 실시하여 $H_2O$, $H_2O$:$CH_3CN$(9:1→1:9), $CH_3CN$, $CH_3CN$:$CH_3Cl$ (3:1), $CH_3Cl$, EtOH로 분획을 나누었다. 그 중 $CH_3CN$:$CH_3Cl$(3:1)분획물(289mg)을 silica gel column chromatography(전개용매; EtOAc:hexane=2:10, 10:20, 20:50, 50:90, 0:100→EtOH/$CH_3CN$)를 실시하여 얻은 EtOAc:hexane(20:50)의 분획물(79mg)을 Prep-HPLC로 Compound 1(6mg)과 Compound 2(7mg)를 단리하였다.

Compound 1-담황색무정형분말, mp 155-156℃, IR $\nu$ max$^{KBr}$cm$^{-1}$ 3341(OH), 1701(C=O), 1651, 1560, 1508 (aromatic C=C), 1082, 1042(C-O), UV $\lambda_{max}^{MeOH}$ nm(log $\varepsilon$) 295(4.4), 318(4.0) 340(3.8), $^1$H-NMR ($Me_2CO$-$d_6$, 500MHz) $\delta$ 1.47(3H, s, 7"-Me), 1.57(3H, s, 6"-Me), 1.64 (3H, s, 10"-Me), 2.04(2H, *m*, H-3"), 2.59(2H, *m*, H-2"), 2.60(2H, *m*, H-1"), 2.70(1H, *dd*, J=16.8, 2.9Hz, H-3), 3.03(1H, *dd*, J=16.8, 13.2Hz, H-3), 3.83(3H, *s*, OMe), 4.55(2H, *m*, H-9"), 4.97(1H, *br* t, J=6.9Hz, H-4"), 5.68 (1H, *dd*, J=13.2, 2.9Hz, H-2), 6.01(1H, *s*, H-6), 6.51(1H, *m*, H-5'), 6.57(1H, *m*, H-3'), 8.52 and 9.52(1H, *s*, OH), 12.16(1H, *s*, $C_5$-OH); $^{13}$C-NMR($Me_2CO$-$d_6$, 125MHz) $\delta$: 197.34(C-4), 165.50 (C-7), 162.02(C-5), 161.50(C-9), 158.85(C-4'), 157.79 (C-2'), 148.08(C-8"), 130.96(C-5"), 127.63(C-6'), 123.62 (C-4"), 118.34(C-1'), 110.37(C-9"), 108.40(C-5'), 107.11 (C-8), 102.38(C-10), 99.05(C-3'), 95.19(C-6), 74.17 (C-2), 46.94(C-2"), 41.96(C-3), 31.11 (C-3"), 26.90(C-1"), 24.99(C-6"), 18.27(C-10"), 17.01 (C-7"), 54.99(Me).

Compound 2-미황색분말, mp 173~175℃, IR $\nu$ max$^{KBr}$cm$^{-1}$ 3308(OH), 1632(C=O), 1608, 1540, 1528 (aromatic C=C), 1060, 1050(C-O), UV $\lambda_{max}^{MeOH}$nm(log $\varepsilon$) 294(4.45), 342(3.60) 340(3.8), $^1$H-NMR ($Me_2CO$-$d_6$, 500 MHz) $\delta$ 1.48(3H, *s*, 6"-Me), 1.55(3H, *s*, 7"-Me), 1.63

(3H, *s*, 10"-Me), 2.01(2H, *m*, H-3"), 2.53(2H, *m*, H-2"), 2.62(2H, *m*, H-1"), 2.75(1H, *dd*, J=17.2, 2.9Hz, H-3), 3.06(1H, *dd*, J=17.2, 13.2Hz, H-3), 4.54(1H, *s*, H-3), 4.57 (1H, *s*, H-3), 4.98(1H, *m*, H-4"), 5.66(1H, *d*, J=12.9Hz, H-2), 6.00(1H, *s*, H-6), 6.45(1H, *m*, H-5'), 6.47(1H, *m*, H-3'), 12.18(1H, *s*, C5-OH); $^{13}$C-NMR ($Me_2CO$-$d_6$, 125 MHz) $\delta$ :197.36(C-4), 164.50 (C-7), 162.21(C-5), 161.28 (C-9), 158.57(C-4'), 155.29 (C-2'), 148.32(C-8"), 130.80 (C-5"), 127.82(C-6'), 123.66 (C-4"), 117.04(C-1'), 110.37 (C-9"), 107.00(C-5', C-8), 102.59 (C-3'), 102.38(C-10), 95.40(C-6), 74.53(C-2), 46.99 (C-2"), 42.05(C-3), 31.10 (C-3"), 26.95(C-1"), 25.01 (C-6"), 18.33(C-10"), 17.04 (C-7").

#### 4. 세포배양

제조한 시료는 즉시 4℃냉장고에 저장하였다가 사용 직전에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 고삼으로부터 분리된 시료에 대한 해독작용을 측정하기 위하여 NIH 3T3 섬유아세포를 한국생명공학연구원 세포주 은행으로부터 분양받아 사용하였다. 세포배양액은 DMEM(Gibco-BRL, USA)에 10% fetal bovine serum(Gibco-BRL, USA)과 penicillin G(25unit/ml, Gibco-BRL, USA), streptomycin(0.25 $\mu$g/ml, Gibco-BRL, USA)를 첨가하여 조제하였고, 세포의 배양은 37℃, 95% 습도, 5% $CO_2$ 배양기(Shellab, USA)에서 계대 배양하였다.

#### 5. MTT 방법에 의한 세포독성도 검사

세포의 증식 또는 생존의 정도를 Mosmann[14] MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma Chemical Co., USA]방법으로 측정하였다. Flatbottom의 96 well microplate에 NIH 3T3 세포를 $1\times10^3$이 되도록 분주하여 24시간 배양한 후, 고삼으로부터 추출한 시료들을 DMSO에 녹여 각 well에 처리한 후 48시간 배양하였다. 배양 후에 2mg/ml 농도의 MTT용액을 0.05ml씩 각 well에 넣어 $CO_2$ 배양기에서 3시간 동안 배양하고 상청액을 30 $\mu$l만을 남도록 multiple channel aspirator을 사용하여 흡입한 후 각 well에 100% DMSO 0.15ml을 첨가하였다. 이를 plate shaker에서 5~15분간 진탕시킨 다음 ELISA reader (Biorad, Richmond, CA, USA)로 570nm에서 흡광도를 측정하였다.

실험시 사용한 카드뮴 농도는 $MTT_{50}$(midpoint inhibition value)농도를 결정하여 사용하였으며 수복효과 실험은 6개군으로 구분하여 배양액만으로 배양한 대조군, $MTT_{50}$량의 카드뮴처리군, $MTT_{50}$량의 카드뮴과 고삼처리 군, $MTT_{50}$량의 카드뮴과 각각의 고삼 추출물 처리군, $MTT_{50}$량의 카드뮴과 고삼추출물의 병용처리군으로 나누어 실험하였다.

Survival Absorbance (%)는 다음 공식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{Survival Absorbance (\%)} = \frac{\text{Mean of absorbance in test wells}}{\text{Mean of absorbance in control wells}} \times 100$$

## 결과 및 고찰

#### 1. 화합물의 구조동정

화합물 1의 IR spectrum은 보면 3341cm$^{-1}$에서 OH기, 1701cm$^{-1}$에서 $\alpha,\beta$-unsaturated ketone기를 C=O, 1651, 1560, 1508cm$^{-1}$에서 aromatic C=C의 흡수대가 각각 관측되어 flavnoid 화합물임을 추정하였다. 1H-MNR에서 3.83ppm에서 methoxy기가 1개 치환된 것임을 알 수 있다. 2.70(J=16.8, 2.9Hz), 3.03(J=16.8, 13.2 Hz), 5.68(J=13.2, 2.9Hz)ppm 각각 double double으로부터 flavanon화합물로 추정할 수 있다. 이상의 사실과 문헌[15]을 비교하여 이 화합물은 5,7,4-Trihydroxy-2'-methoxyflavanone 즉 Leachianone A로 동정하였다.

화합물 2의 IR spectrum, $^1$H-NMR spectrum도 화합물 1의 그것과 매우 유사한 것으로 보아 동일계열의 화합물임을 알 수 있으며, $^1$H-NMR spectrum을 보면에서 3.83ppm에서 나타나지 않았다. 이상의 사실과 문헌[15,16]을 비교하여 이 화합물은 5,7,2',4'-Tetrahydroxyflavanone 즉 Sophoraflavanone G로 동정하였다.

#### 2. MTT 방법에 의한 세포 생존률(viability) 측정

NIH 3T3 섬유아세포를 여러 농도의 카드뮴으로 처리한 후, MTT의 흡광도를 측정하고, 대조군의 흡광도를 100%로 하여 각각의 처리군에 대한 흡광도를 비례적으로 측정한 결과, MTT의 흡광도는 카드뮴의 농도에 의존하여 감소하였으며, $IC_{50}$인 $MTT_{50}$은 12.5 $\mu$M이었다. 고삼 및 고삼추출물의 카드뮴 방어효과를 평가하기 위하여 카드뮴을 $IC_{50}$농도로 처리하고 고삼(*Sophora flavescens*) 및 고삼추출물인 Leachianone A (LA)와 Sophoraflavanone G(SFG)를 각 화합물의 자체 세포독성을 갖지 않는 농도로 처리한 후 MTT assay로 세포 생존률을 측정하였다. 그 결과 대조군(control)에 비해 카드뮴 처리군($MTT_{50}$)군의 세포생존률은 36.3%

**Table 1. The effects of Leachianone A, Sophoraflavanone G on the MTT absorbance in cultured NIH 3T3 fibroblasts. Cells were incubated for 48 hrs. The values represent the mean±standard deviations for triplicate experiments. Significantly different from the $MTT_{50}$ group(**;p<0.01)**

| Concentration (μg/ml) | Absorbance(% of control) Mean±S.D. | | | |
|---|---|---|---|---|
| | NIH 3T3 fibroblasts | | | |
| | *S. flavescens* | LA | SF-G | LA+SF-G |
| Control | 1.016±0.035 (100%) | 0.988±0.016 (100%) | 0.982±0.013 (100%) | 0.978±0.012 (100%) |
| $MTT_{50}$ | 0.372±0.013 (36.3%)* | 0.340±0.011 (34.4%) | 0.369±0.019 (37.6%) | 0.308±0.015 (31.5%) |
| 0.5 | 0.419±0.013 (41.2%) | 0.374±0.007 (37.9%) | 0.422±0.008 (43%) | 0.381±0.010 (39%) |
| 1 | 0.434±0.008 (42.7%) | 0.423±0.011 (42.8%) | 0.477±0.012 (48.6%) | 0.417±0.007 (42.6%) |
| 5 | 0.494±0.010 (48.6%) | 0.541±0.011 (54.8%) | 0.622±0.007 (63,3%) | 0.641±0.013 (65.5%) |
| 10 | 0.554±0.012 (54.5%) | 0.594±0.007 (60.1%) | 0.65±0.003 (66.2%) | 0.691±0.006 (70.7%) |
| 50 | 0.602±0.009 (59.3%)** | 0.697±0.010 (69.1%)** | 0.709±0.010 (72.9%)** | 0.744±0.002 (74.8%)** |

The values represent the mean±standard deviations for triplicate experiments.
Significantly different from the $MTT_{50}$ group(**;p< 0.01)
LA ; Leachianone A (MW;438.2038), Sophoraflavanone G ; SFG (MW;424.1886), LA+SFG ; Leachianone A + Sophoraflavanone G

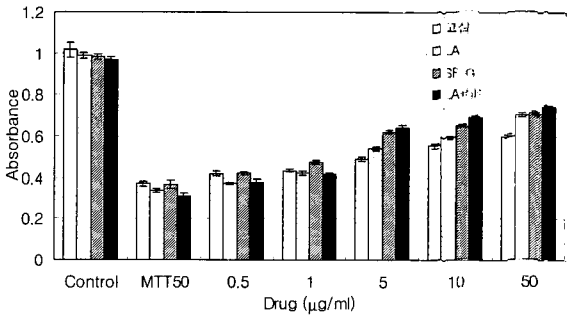


**Fig. 1. The effects of Leachianone A, Sophoraflavanone G on the absorbance in cultured.**

(P<0.01)로 감소되었고 이에 비해 $IC_{50}$+고삼처리군의 세포생존률은 59.3%(p<0.01)까지 증가되었으며 이는 고삼 농도에 의존적으로 세포독성이 줄어듦을 확인할 수 있었다. 따라서 이러한 고삼의 카드뮴의 세포독성 방어효과가 LA와 SFG에 의한 효과인지를 확인하기 위하여 카드뮴을 $IC_{50}$농도로 처리하고 LA 및 SF-G, LA+SFG를 병용처리하여 세포생존률을 측정하였다. 그 결과, $IC_{50}$+LA처리군은 카드뮴처리군의 세포생존률(34.4%)에 비해 그 생존률이 69.1% (P<0.01)까지 증가하였으며 이는 LA 농도에 의존적으로 증가되었고, $IC_{50}$+ SFG처리군도 $MTT_{50}$군(37.6%)에 비해 생존률이 72.9% (P<0.01)까지 증가되었고 이도 SFG의 농도에 의존적으로 생존률이 증가됨을 확인할 수 있었다. 또한 LA와 SFG 병용처리에 의한 효과를 평가하기 위하여 $IC_{50}$+LA+SFG를 처리하고 $MTT_{50}$군(31.5%)과 생존률을 비교한 결과 생존률이 74.8%(P<0.01)까지 증가되었으며 이는 LA+SFG의 농도에 의존적으로 증가되어, LA+SFG 병용처리가 카드뮴 독성에 대한 방어효과가 높음을 확인하였다. 이러한 결과는 고삼 추출물인 LA와 SFG가 카드뮴에 의한 세포 독성에 대한 방어효과가 있음을 시사한다.

### 3. 세포의 광학현미경적 관찰

세포의 광학현미경적 관찰에서는 대조군을 24시간 배양하면 well 바닥에 뚜렷한 핵을 갖는 방추형으로 단층을 이루며, NIH 3T3 섬유아세포들이 부착되어 있다(Fig. 2-A). $IC_{50}$의 카드뮴을 처리한 군에서는 세포수가 감소하였고, 세포의 형태가 원형으로 변형되는 양

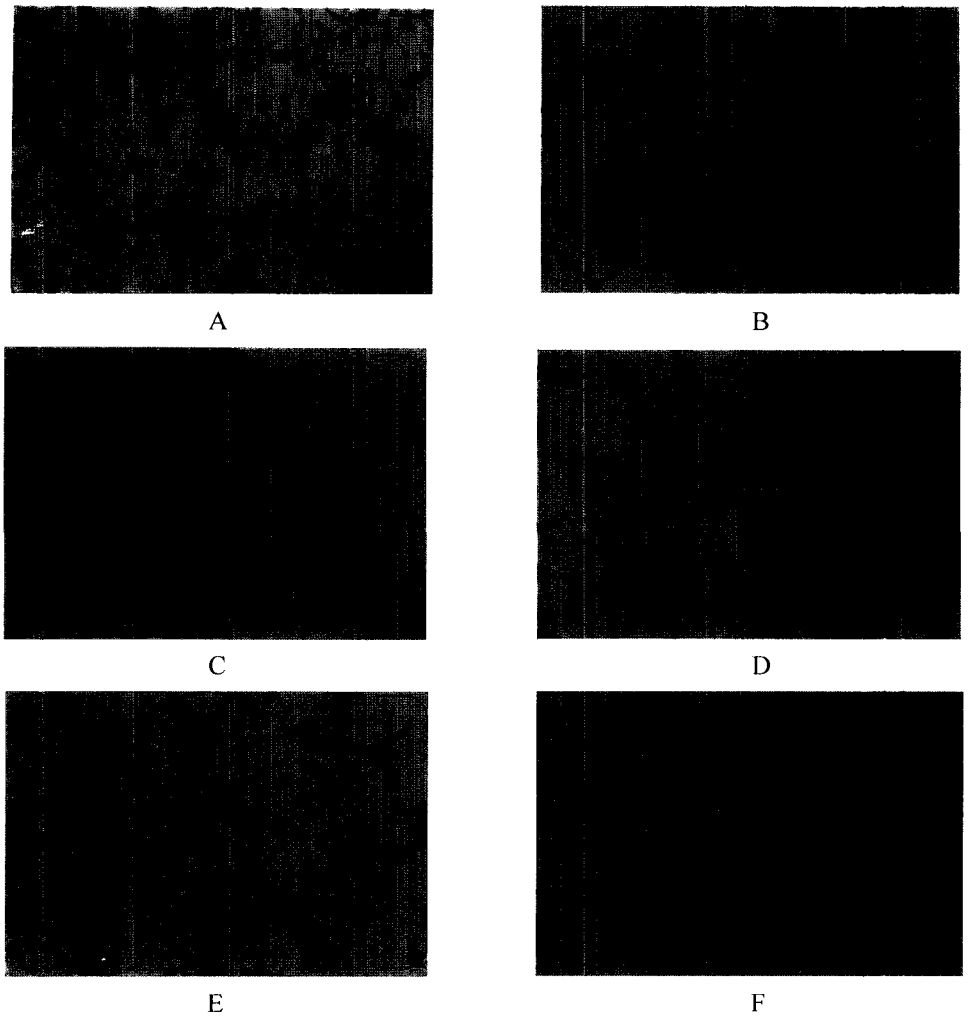


**Fig. 2. Effects of Leachianone A and Sophoraflavanone G on the morphology of NIH 3T3 cells treated with 12.5 $\mu$M cadmium.** NIH 3T3 fibroblasts were seeded at a density of $10^5$ cells/well in 96well microplates in MEM supplemented with 10% FBS. After overninght incubation, cells were washed with PBS and then medium was added to the cells without (A), with 12.5 $\mu$M cadmium (B), with 12.5 $\mu$M cadmium+50 $\mu$g/ml *S. flavescens* (C), with 12.5 $\mu$M cadmium+50 $\mu$g/ml Leachianone A (D), with 12.5 $\mu$M cadmium+50 $\mu$g/ml Sophoraflavanone G (E). with 12.5 $\mu$M cadmium+50 $\mu$g/ml Leachianone A+50 $\mu$g/ml Sophoraflavanone G (F). Photographs of the cultures were taken with an inverted microscope after MTT assay (×200).

상을 볼 수 있었다(Fig. 1-B). $IC_{50}$ 농도의 카드뮴과 고삼, Leachianone A, Sophoraflavanone G 그리고 Leachianone A + Sophoraflavanone G을 처리한 군에서는 $IC_{50}$ 군에 비하여 세포수가 증가하고 세포의 형태가 변하지 않는 등의 카드뮴 독성에 대하여 방어효과가 뚜렷하였다(Fig. 2-C, 2-D, 2-E). 다른 물질에서 분리한 flavonoids가 중금속인 카드뮴 방어효과를 측정한 보고가 있어 직접적인 비교는 할 수 없으나, 본 실험결과에 의하면, 카드뮴에 대한 세포독성을 고삼으로부터 분리한 flavonoids가 억제 방어효과가 있는 것으로 인정된다. 고삼으로부터 분리된 여러 종류의 flavonids가 카드뮴에 대한 해독물질이 함유되어 있을 것으로 판단되어 분광학적인 방법으로 분자구조들의 형태에 따른 규명하는 노력을 계속할 계획이다.

## 요 약

고삼 메탄올 추출물로부터 분리한 flavonoids를 IR, NMR등의 분광학적인 방법으로 Leachianone A(LA)과 Sophoraflavanone G(SFG)로 동정하였고, 카드뮴의 세포독성효과를 고삼 및 고삼추출물이 방어할 수 있는지를 검색하기 위하여 NIH 3T3세포에 고삼 및 LA와 SFG, LA+SFG를 처리하고 MTT assay 및 광학현미경으로 세포의 생존률을 검색하여 다음과 같은 결론은

얻었다.

MTT의 흡광도는 카드뮴의 농도에 의존하여 감소하였으며, $IC_{50}$ 인 MTT50 은 12.5 $\mu$M이었으며 카드뮴을 $IC_{50}$농도로 처리하고 고삼 및 LA, SFG, LA+SFG를 각 화합물의 자체 세포독성을 갖지 않는 농도로 처리한 후 MTT assay로 세포 생존률을 측정한 결과 LA, SFG, LA+SFG 처리군들은 카드뮴 처리군($MTT_{50}$)에 비해 세포생존률이 증가되었으며 이들은 고삼 및 고삼추출물의 농도에 의존적으로 증가되었고 각각의 단일 화합물보다 두 화합물 LA+SFG 병용처리군에서 수복 효과가 더 좋은 것으로 나타났으며 광학현미경적 소견에서도 세포재생이 뚜렷하게 보였다.

이상과 같이 고삼에서 분리한 flavonoids가 카드뮴 독성에 의하여 손상된 NIH 3T3 섬유아세포의 재생효과에 영향이 있는 것으로 판단된다.

## 참고문헌


1. 농수축산신문 : 한국식품연감, 제19장 외식산업 (1994).
2. Beattie, J. H., Marion, M., Schmit, J. P. and Denizeau, F. : The cytotoxic effects of cadmium chloride and mercuric chloride mixtures in rat primary hepatocyte cultures, *Toxicology*, **62**(2), 161~173(1990).
3. Williams, P. L. and Burson, J. L. : Industrial Toxicology. (eds) Van Nostrand Reinhold. p.197~210(1985).
4. Foulkes, E. C. (eds) : Biological roles of metallothionein, Elsevier, New York, p, 215~222(1982).
5. Vallee, B. L. and Ulmer, D. D. : Biochemical effects of mercury, cadmium and lead. *Ann. Rev. Biochem.*, **41**, 91~128(1972).
6. 국립보건원 : 식품중의 미량금속에 관한 조사연구, 29, p. 365~377(1992).
7. 김운성, 이철호, 김성조, 이주돈, 문광현, 백승화.:알로에 첨가식이 흰쥐의 카드뮴 독성에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, **27**(4), 555~563(1995).
8. 최성인, 이정희, 이서래. : 동물실험에 의한 녹차음료의 카드뮴 및 납 제거효과, *한국식품과학회지*, **26**(6), 745~749(1994).
9. Word Health Organization : Lead environmental health criteria 3. Geneva, WHO, 160(1977).
10. Huang, M. T., Smart, R. C., Wang, C. Q., and Conney, A. H.: Inhibitory effect of carcumin, chlorogenic acid, caffeic acid, and ferulic on tumor promotion in mouse skin by 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer Res.*, **48**, 5941~46(1988).
11. Tang, W. and Eisenbrand, G. : Chinese Drugs of Plant Origin, Springer-Verlag, Berlin, p. 931~943(1992).
12. Ryu, S. Y., Lee, H. S., Kim, Y. K., and Kim, S. H. : Determination of isoprenyl and lavanduly positions of flavonoids from *Sophora flavescens* by NMR Experment. *Arch. Pharm. Res.*, **20**, 491~495(1997).
13. Woo, E. R., Kwak, J. H., Kim, H. J., and Park, H. K. : A new prenylated flavonol from the roots of *Sophora flavescens*, *J. Nat. Prod.*, **61**, 1552~1554(1998).
14. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assaya for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, **65**, 55~63(1978).
15. Inuma, M., Tanaka, T., Mizuno, M., Shirataki, Y., Yokoe, I., Komatsu, M and A. Lang, F. : Two flavanones in sophora leachiano and some related structure, *Phytochemistry*, **29**(8), 2667~2669(1990).
16. Kim, Y. K., Min, B. S., and Bae, K. H. : A cytotoxic constituent from *Sophora flavescens*, *Arch. Pharm. Res.*, **20**(4), 342~345(1997).


(2002년 2월 20일 접수)