

신나무 껍질 추출물의 항돌연변이원성 및 세포독성 효과

오흥석¹ · 최승필² · 최형택³ · 김수현 · 전미선 · 함승시[†]

강원대학교 바이오산업공학부, ¹강원도보건환경연구원, ²연변대학 농학원 식품과학학부, ³(주)신원에프아이

Antimutagenic and Cytotoxic Effects of *Acer ginnala* Max. Bark Extracts

Heung-Seok Oh¹, Cheng-Bi Cui², Hyung-Taek Choi³, Soo-Hyun Kim, Mi-Sun Jeon, Seung-Shi Ham[†]

School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

¹Gangwon Institute of Health and Environment, Chunchon 200-822, Korea

²Department of Food Science and Engineering, Agricultural college of Yanbian University, Longjing 133-400, China,

³Shin Won Food Industry Co., LTD. Hwasung, 445-940, Korea

Abstract

In the present study, we investigated the antimutagenic and cytotoxic effects of *Acer ginnala* Max. bark extract on *S. typhimurium* TA98, TA100 and cancer cell lines with Ames test and SRB assay, respectively. They were extracted with methanol and then fractionated using hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, and water to obtain the fractions. The inhibition rate of methanol (200 µg/plate) of *Acer ginnala* Max. bark extract in the *Salmonella typhimurium* TA100 strain showed 83.3% against the mutagenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG). In addition, the suppression of methanol extract with same concentration of in the *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains showed 80.3% and 92.7% inhibition against 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indol (Trp-P-1), respectively. The cytotoxicity effects of *Acer ginnala* Max. bark extract against the cell lines with human lung carcinoma (A549), human gastric carcinoma (AGS), human hepatocellular carcinoma (Hep3B) and human breast adenocarcinoma (MCF-7) were inhibited with the increase of the extract concentration. The treatment of 1.0 mg/mL *Acer ginnala* Max. bark methanol extract of methanol showed strong cytotoxicities of 77.3%, 90.4%, 88.9%, and 83.7% against A549, AGS, Hep3B and MCF-7, respectively.

Key words : *Acer ginnala* Max., antimutagenicity, cytotoxicity

서 론

현대 의학이 당면한 가장 큰 과제 중의 하나는 암을 효과적으로 치료하는 방법을 개발하는 일이다. 현재 사용되고 있는 암의 치료방법으로는 조기진단이 가능하다면 수술요법이 유용한 방법이며, 어느 정도 진행된 암에 대해서 면역요법이 새로운 치료요법으로 대두되고 있으나 아직까지 방사선요법이나 화학요법을 이용하고 있는 실정이다. 그러나 방사선요법이나 화학요법은 정상세포에 대한 독성, 암세포의 내성 획득, 인체 내에서의 신속한 분해와 배설 등의 결점과 숙주의 방어력에 중요한 역할을 담당하는 임파구 및 골수세포 등도 동시에 파괴하는 등의 결점이 문제가 되고 있다. 이에 따라 식물자원과 같은 천연물로부터 효과가 좋고 독성

이 적은 약물을 얻기 위한 연구가 다각도로 오래전부터 진행되고 있다(1,2). 식물추출물에 대한 연구결과 항산화효과, 항돌연변이원성, 항암효과, 항균활성, 간 손상에 대한 보호효과, 혈당강하효과, 항궤양효과, 고지혈증에 미치는 효과 등 생리활성을 나타내는 유용한 식물자원들이 많은 것으로 보고되고 있다(3-5). 식물추출물들에 함유된 테르페노이드, 스테로이드, 페놀성 화합물, 알칼로이드 및 다당체 등이 단독 또는 복합적으로 항산화 효과를 비롯한 생리활성을 나타내는 것으로 알려지고 있다(6,7). 또한 식물자원 추출물로부터 항암제를 개발하기 위하여 Ames Test를 이용한 항돌연변이원성 확인, 그리고 더 나아가 인간 세포주를 이용한 항암 효과에 관한 연구도 활발히 진행되고 있다(8-11).

신나무(*Acer ginnala* Max.)는 우리나라 각처의 하천유역 및 습원에 자생하며, 일본이나 중국에도 분포하는 단풍나무과(1속 34종)에 속하는 낙엽교목으로 높이 10 m까지 자라며, 신나무 또는 시다가나무라고도 한다. 나무껍질은 검은빛을 띤

[†]Corresponding author. E-mail : hamss@kangwon.ac.kr,

Phone : 82-33-250-6453, Fax : 82-33-250-6453

갈색이며 전체에 털이 없다. 잎은 마주나고 세모진 타원형이거나 달걀 모양이며 밑 부분이 흔히 3개로 갈라진다. 가을에 단풍이 아름다워 관상용으로 심거나 목재로 이용하며, 잎은 염료로 사용할 수도 있다. 민간에서는 나무껍질을 안질에 약으로 쓰거나 상처를 아물게 하는 고약 또는 지사제로 이용되어 왔다(12,13). 산나무의 성분으로는 phenol성 화합물, tannin류, saponin 등이 분리 및 동정되었으며, 산나무 추출물은 Vitamin C, α -Tocopherol 및 기존의 합성 항산화제로 많이 이용되는 BHT (butylated hydroxytoluene)에 비하여 항산화력이 강한 것으로 확인되었으며, 항균활성과 항암효과도 있는 것으로 알려지고 있다(14-19).

이에 본 연구에서는 항산화활성이 강한 산나무(*Acer ginnala* Max.)를 대상으로 산나무 껍질 추출물을 분획 조제하고, 이들에 대하여 *S. typhimurium* TA98, TA100을 이용한 Ames test로서 항돌연변이원성을 검토하였고, SRB assay를 이용하여 각종 암세포에 대한 항암활성을 탐색하였다.

재료 및 방법

재료 및 추출물 조제

실험에 사용한 산나무는 강원도 홍천군 내면 일대에 야생하는 20년 내의 수령으로 11월에 채취하여, 나뭇가지 1 cm까지는 그대로 사용하고 굵은 것은 수피부분을 잘게 썰어서 음지에서 풍건하였다. 음건한 시료를 95% 메탄올을 가하여 16시간씩 3회 추출한 후 여과하여 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이 메탄올 추출물을 용매의 극성에 따라 순차적으로 분별분리를 행하여 각각 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 분획물을 얻고, 다시 감압 농축하여 동결건조한 후 실험에 사용하였다.

시 약

직접 돌연변이원 (direct mutagen)으로서 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO), N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine (MNNG)은 미국 Sigma사, 간접 돌연변이원인 benzo(a)pyrene (B(a)P)과 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indol (Trp-P-1)은 일본 和光純藥의 특급시약을 구입하여 사용하였다. 세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 Hepes buffer, Fetal bovine serum (FBS), Tripsin-EDTA는 Gibco사 (U.S.A.)로부터 구입하였다. 본 실험에 이용된 인간 폐암세포 A549 (Lung carcinoma, Human), 인간 위암세포 AGS (Gastric carcinoma, Human), 인간의 유방암세포 MCF-7 (Breast adenocarcinoma, Human) 및 인간의 간암세포 Hep3B (Hepatocellular carcinoma, Human)는 Korea Cell Line Bank (KCLB)로부터 구입하여 본 실험실에

서 배양하면서 실험에 사용하였다. 그 외 추출 용매인 메탄올, 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 등은 특급시약을 사용하였다.

돌연변이원성 실험

산나무 껍질 추출물과 분획물의 돌연변이원성 실험은 *S. typhimurium*의 변이주인 TA98과 TA100을 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation법 (20)으로 실시하였다. 건열멸균 시킨 glass cap tube에 각각의 시료를 50 μ g/plate씩 가하고 여기에 전배양 시킨 배양균액 100 μ L를 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 7.4)로 전체량이 700 μ L가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕 배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar (45°C)를 2 mL씩 가하여 잘 혼합한 후 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고정화시켜 37°C에서 48시간 배양하여 생성된 복귀돌연변이 (his+ revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

항돌연변이원성 실험

Ames test를 개량한 preincubation법에 따라 항돌연변이원성 실험을 실시하였으며, 실험에 사용한 변이원은 4NQO, MNNG, Trp-P-1 그리고 B(a)P이었다. 건열멸균 시킨 glass cap tube에 시료를 각각 50 μ L씩 첨가하고 이어서 변이원 물질을 각각 50 μ L씩 첨가하였다. 간접 변이원인 경우 10% S-9 mix를 250 μ L씩 첨가하였다. 여기에 전배양 시킨 균액을 100 μ L씩 주입한 후에 0.2 M sodium phosphate buffer를 가하여 최종부피가 700 μ L가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕 배양한 다음 상기의 돌연변이원성 실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 복귀돌연변이 수를 측정하여 항돌연변이성 유무를 판정하였다. 산나무 껍질 추출물과 분획물 그리고 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며, 항돌연변이활성은 변이원물질의 활성화에 대한 시료의 억제율 (inhibition, %)로 나타내었다.

세포독성 실험

SRB (sulforhodamine B) assay는 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법 (21)으로 10%의 fetal bovine serum과 각각의 세포들인 인간 폐암세포 (A549), 인간 유방암세포 (MCF-7), 인간의 간암세포 (Hep3B) 그리고 인간의 위암세포 (AGS)를 함유하는 RPMI 1640 배지를 5×10^4 cell/mL 농도로 100 μ L씩 각 well에 첨가하여 하루 동안 배양 (37°C, 5% CO₂)시킨 후 PBS에 녹인 시료들을 각각 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL씩 첨가하여 다시 48시간 배양시켰다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 차가운 10% TCA (4°C) 용액을 50 μ L씩 첨가하여 세포들을 well 바

닥에 고정시켰다. 한시간 동안 4°C에서 배양시킨 후, TCA와 배지들을 제거하기 위하여 증류수로 다섯번 행구었다. Plate를 건조시키고 여기에 1% acetic acid에 녹인 0.4% SRB를 첨가해서 30분 동안 염색시킨 후 결합하지 않은 SRB염색액을 제거하기 위해 1% acetic acid 용액으로 네번 세척하였다. 건조기에서 건조된 plate는 10 mM Tris buffer 100 µL로 염색제를 충분히 녹인 후 540 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

돌연변이원성 및 항돌연변이원성

S. typhimurium TA98, TA100의 두 균주를 이용한 Ames test를 행한 결과 control의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 17.5±1.5, TA100은 169±8.0이었다. 신나무 껍질 추출물과 분획물 6종을 50 µL/plate, 100 µL/plate, 150 µL/plate, 200 µL/plate의 농도로 하여 시험한 결과 농도의 변화에 따른 집락수의 큰 변화를 나타내지 않았으므로 신나무 껍질 추출물과 분획물 자체로는 돌연변이원성이 없는 것으로 판단되었다(데이터 생략).

메탄올 추출물과 각각의 용매 분획물에 대한 항돌연변이원성을 실험한 결과, 직접변이원으로 작용하는 강력한 돌연변이원성과 발암성을 가진 MNNG (0.4 µg/plate)에 대하여 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 50 µL/plate에서 200 µL/plate까지 첨가하였을 때 용량-반응관계가 뚜렷하게 나타났다. 특히, 시료농도 200 µL/plate 첨가시 메탄올 추출물과 물 분획물에서 각각 83.3%와 78.1%로 다른 시료보다 높은 항돌연변이원성을 나타내었다(Fig. 1).

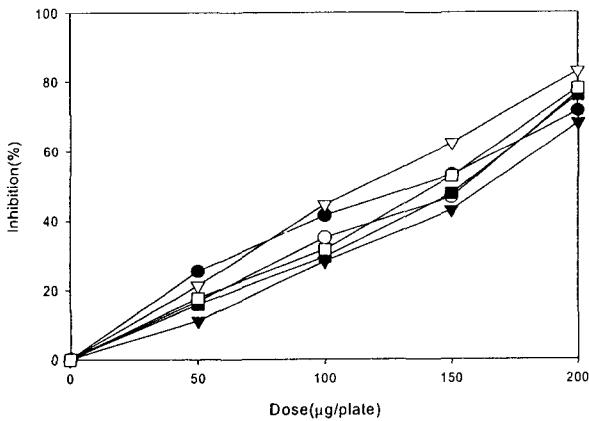


Fig. 1. Inhibitory effects of each fraction of *Acer ginnala* Max. on the mutagenicity by MNNG(0.4 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100.

▽ Methanol ext, ○ Hexane fr, ▼ Chloroform fr,
● Ethylacetate fr, ■ Butanol fr, □ Aqueous fr.

4NQO에 대하여도 *S. typhimurium* TA98균주의 경우, 추출물 200 µL/plate 첨가시 물 분획물이 91.6%, 메탄올 추출물이 84.4%로 다른 시료보다 높은 억제활성을 나타냈으며 *S. typhimurium* TA100균주에서도 메탄올 추출물, 물과 hexan 분획물이 각각 83.1%와 77.8% 그리고 77.3%로 높게 나타내었다(Fig. 2).

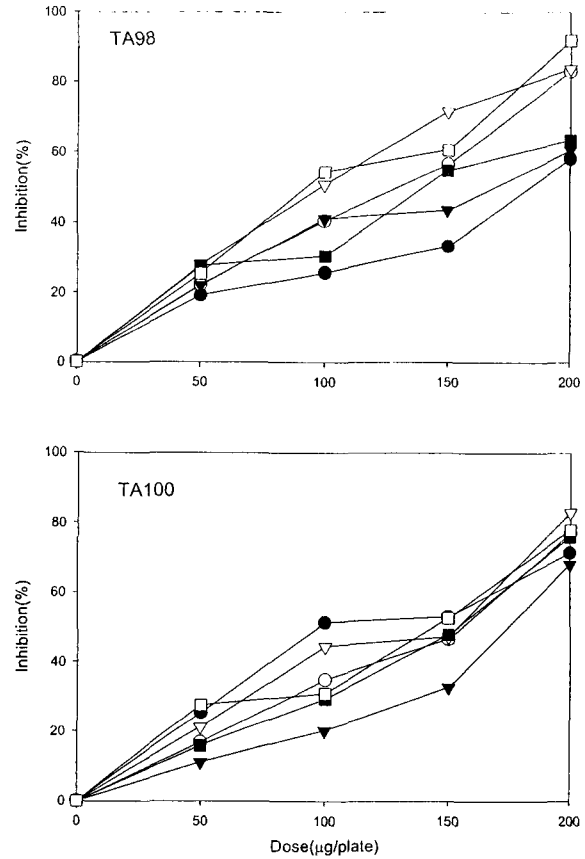


Fig. 2. Inhibitory effects of each fraction of *Acer ginnala* Max. on the mutagenicity by 4NQO(0.15 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

▽ Methanol ext, ○ Hexane fr, ▼ Chloroform fr,
● Ethylacetate fr, ■ Butanol fr, □ Aqueous fr.

간접변이원의 대표적인 물질인 B(a)P와 아미노산 가열 분해산물로 강력한 돌연변이원인 Trp-P-1에 대한 시료들의 억제활성도 관찰하였다. B(a)P (10 µg/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA98 균주에서 시료 200 µL/plate 첨가시 메탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획물에서 각각 88.3%와 78.6%로 높은 억제활성을 나타내었다. *S. typhimurium* TA100균주에서도 200 µL/plate 첨가시 hexan 분획물을 제외한 다른 시료에서 모두 74.3% 이상의 비교적 높은 억제활성을 나타내었다(Fig. 3).

Trp-P-1 (0.15 µg/plate)에서는 *S. typhimurium* TA98균주의 경우 시료 200 µL/plate 첨가시 메탄올 추출물이 80.3%로 높은 항돌연변이원성을 나타낸 반면 기타 시료에서는 비교적

낮은 억제율로 나타내었다. *S. typhimurium* TA100균주에서는 시료농도 200 $\mu\text{L}/\text{plate}$ 첨가시 대부분의 시료에서 모두 80.3% 이상의 높은 억제활성을 나타냈으며, 그 중에서 메탄올 추출물이 92.7%로 가장 높은 항돌연변이원성을 나타냈다(Fig. 4).

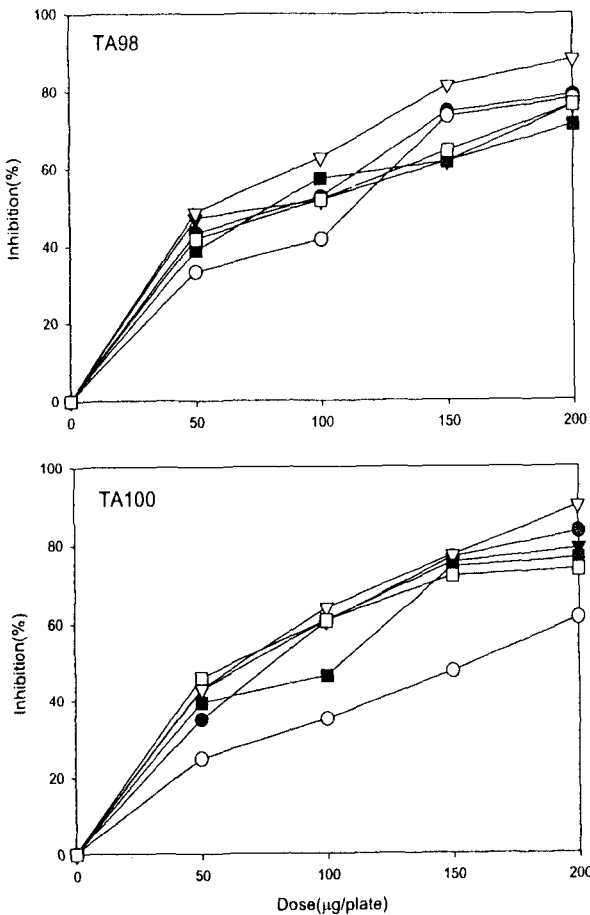


Fig. 3. Inhibition effects of each fraction of *Acer ginnala* Max. on the mutagenicity by B(α) P(10 $\mu\text{g}/\text{plate}$) in *Salmonella typhimurium* TA98 and Ta100.

▽ Methanol ext, ○ Hexane fr, ▼ Chloroform fr,
● Ethylacetate fr, ■ Butanol fr, □ Aqueous fr.

본 연구결과에 의하면 산나무 시료들의 항돌연변이 억제효과는 변이원의 종류에 따라 다른 효과를 나타내었으며 이는 생열귀나무 잎의 추출물들의 항돌연변이 억제효과가 변이원의 종류에 따라 다양하게 나타내었다는 보고(22)와 일치하였다. 또한 시료농도의 증가에 따라 억제율도 증가하여 껍질 추출물과 분획물의 첨가량과 억제율 간에 확실한 용량-반응관계를 나타내었다.

암세포 성장억제 활성

돌연변이원의 대부분은 발암물질이므로 항돌연변이원성

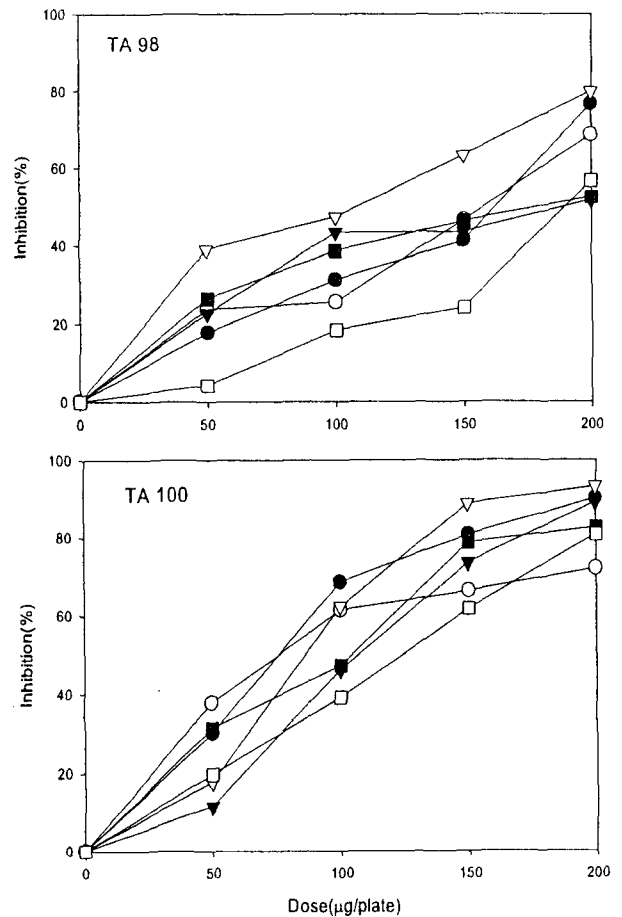


Fig. 4. Inhibitory effects of each fraction of *Acer ginnala* Max. on the mutagenicity by Trp-P-1(0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$) in *Salmonella typhimurium* TA98 and Ta100.

▽ Methanol ext, ○ Hexane fr, ▼ Chloroform fr,
● Ethylacetate fr, ■ Butanol fr, □ Aqueous fr.

을 나타내는 물질은 항암활성을 나타낸다는 것이 지금까지 많은 연구결과 확인되었다. 산나무 껍질 메탄올 추출물과 그 분획물들도 항돌연변이원성을 나타내고 있으므로 인간 암세포에 대한 성장 억제효과를 규명하기 위하여 폐암세포 (A549), 유방암세포 (MCF-7), 위암세포 (AGS), 간암세포 (Hep3B)를 이용한 이들 암세포에 대하여 SRB assay를 행하여 성장억제 활성을 알아보았다.

Fig. 5에서와 같이 폐암세포 A549에 대한 산나무 껍질 메탄올 추출물 및 용매 분획물들의 성장 억제활성을 검토한 결과 시료농도 1 mg/mL 첨가시 메탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획물에서 각각 77.3%와 76.6%의 억제활성을 나타낸 반면에 클로로포름과 물 분획물에서는 50% 미만으로 낮은 억제 활성을 나타냈다.

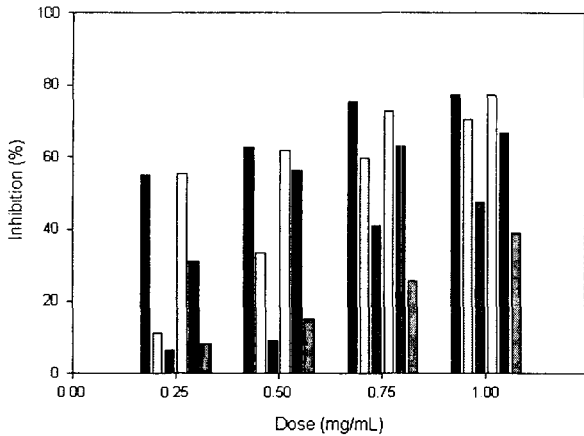


Fig. 5. Growth inhibitory effects of each fraction of *Acer ginnala* Max. on human lung carcinoma(A549).

■ Methanol ext, □ Hexane fr, ▨ Chloroform fr,
 □ Ethyl acetate fr, ■ Butanol fr, ▩ Aqueous fr.

위암세포 AGS에 대한 추출물 및 분획물들의 억제활성은 1 mg/mL 첨가시 물 분획물을 제외한 모든 시료에서 90%이상의 매우 강한 활성을 나타내었는데 메탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획물에서 0.25 mg/mL의 낮은 시료 농도에서도 각각 84.6%와 72.1%의 강한 억제효과를 보여주었다(Fig. 6).

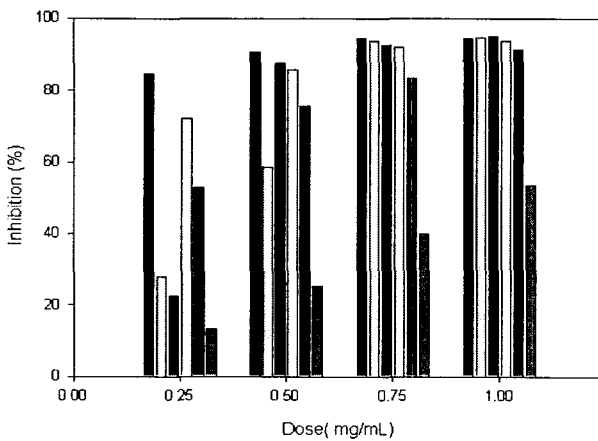


Fig. 6. Growth inhibitory effects of each fraction of *Acer ginnala* Max. on human stomach carcinoma(AGS).

■ Methanol ext, □ Hexane fr, ▨ Chloroform fr,
 □ Ethyl acetate fr, ■ Butanol fr, ▩ Aqueous fr.

MCF-7 세포의 경우에는 시료의 농도의 증가에 따라 암세포 성장 억제활성도 증가하였으며 시료 1 mg/mL 첨가시 모든 시료에서 60%이상의 억제 활성을 나타내었으며 헥산과 에틸아세테이트 분획물에서 90%이상의 높은 암세포 성장억제 효과를 나타내었다(Fig. 7). Hep3B 세포에서는 메탄올 추출물에서 강한 암세포 성장억제 효과를 보여주었는데, 1 mg/mL 첨가시 억제활성은 88.9%이었다(Fig. 8).

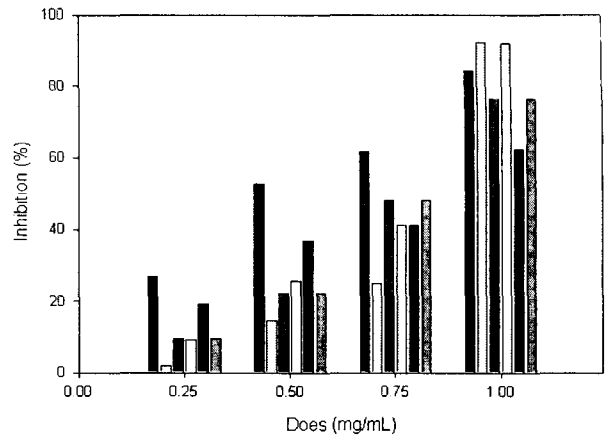


Fig. 7. Growth inhibitory effects of each fraction of *Acer ginnala* Max. on human breast adenocarcinoma(MCF-7).

■ Methanol ext, □ Hexane fr, ▨ Chloroform fr,
 □ Ethyl acetate fr, ■ Butanol fr, ▩ Aqueous fr.

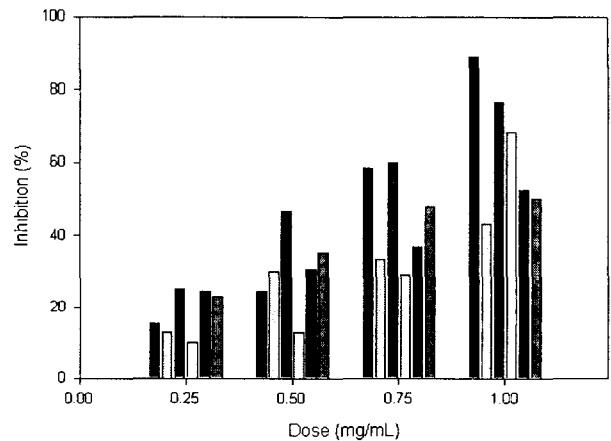


Fig. 8. Growth inhibitory effects of each fraction of *Acer ginnala* Max. on human hepatocellular carcinoma(Hep3B).

■ Methanol ext, □ Hexane fr, ▨ Chloroform fr,
 □ Ethyl acetate fr, ■ Butanol fr, ▩ Aqueous fr.

현재까지 신나무 성분에 관한 연구는 비교적 많이 진행되어 왔으나(14-18), 추출물에 관한 생리활성, 특히 인간 암세포에 대한 억제활성에 관한 연구보고는 별로 없었다. 한(19)등은 신나무의 생리활성 물질인 methyl gallate (일명 gallicin)이 인체 구강유상피암종세포에 대하여 억제활성이 있으며, 정상세포에 영향을 미치는 독성작용이 적은 우수한 항암물질로 판정하였고, 앞으로 구강암 치료를 위한 항암제로 개발 될 수 있을 것이라고 하였다. 본 연구에서도 4종의 암세포 모두에 대하여 신나무 껍질 추출물들이 비교적 강한 성장 억제활성을 나타내었는데 이는 신나무 수피에 함유되어 있는 methyl gallate, acertannin과 같은 polyphenol이나 tannin의 영향이 클 것으로 판단된다. 그러나 식물추출물의

생리활성은 미지의 미량 성분들이 복합적으로 작용하여 나타나는 경우가 많고, 산나무의 성분으로 phenol성 화합물이나 tannin류 외에도 saponin류도 분리되고 있고, 미확인 물질들도 존재할 수 있으므로 단일성분에 의한 효과로 보기 어렵다. 본 연구 결과에서도 메탄올 추출물이 대부분의 암세포에 대하여 강한 억제활성을 나타내는데 비하여 용매별 분획으로 얻어진 분획물 중에서는 에틸아세테이트 분획물외에는 대체로 메탄올 추출물보다 억제활성이 강하게 나타나는 분획물은 없는 것으로 나타내었다. 따라서 산나무 껍질 추출물이 항돌연변이원성과 각종 암세포에 대한 억제활성이 비교적 다양하게 나타났으므로 앞으로 그 효과를 명백히 규명하기 위하여 추가적인 검색 및 활용방안에 대하여 충분한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

요 약

산나무(*Acer ginnala* Max.) 껍질의 메탄올 추출물 및 분획물들의 Ames test를 이용한 항돌연변이원성 및 SRB assay에 의한 세포독성 효과를 규명하였다. 시료 자체는 돌연변이원성이 없는 것으로 나타났다. MNNG (0.4 µg/plate)에 대한 항돌연변이 효과에서 *S. typhimurium* TA100 균주에 대해 산나무 껍질 메탄올 추출물에서 시료농도 200 µL/plate 첨가시 83.3%로 가장 높게 나타났다. 동일시료 농도에서 4NQO에 대하여서는 *S. typhimurium* TA98과 TA100 두 균주 모두에서 메탄올 추출물이 80%이상의 높은 항돌연변이원성을 나타내었다. B(a)P에 대한 *S. typhimurium* TA98 균주에 대해 시료 200 µL/plate 첨가시 메탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획물에서 각각 88.3%와 78.6%의 억제활성을 나타내었으며 Trp-P-1 (0.15 µg/plate)에서는 *S. typhimurium* TA98과 TA100 두 균주 모두에서 메탄올 추출물이 80%이상의 높은 억제활성을 나타냈다. 폐암 세포주 A549에 대한 암세포 성장 억제 활성을 검토한 결과 메탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획물에서 0.25 mg/mL의 낮은 시료 농도에서도 54.9%와 55.3%의 억제효과를 보여주었다. 위암 세포 AGS의 경우 시료농도 1 mg/mL 첨가시 대부분의 시료에서 90%이상의 매우 강한 활성을 나타내었다. 유방암세포 MCF-7와 간암세포 Hep3B에서는 메탄올 추출물이 시료농도 1 mg/mL 첨가시 80% 이상의 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내었다.

참고문헌

- Han, D.S., Chung, B.S. and Kim, Y.C. (1980) Studies on the antitumor activity of some crude drugs. Kor. J. Pharmacog., 11, 7-10

- Shin, D.H. (1997) The study course and movement of natural antioxidant. J. Food Sci. Technol., 30, 14-18
- Kim, H.Y. and Oh, J.H. (1999) Screening of Korean forest plants for rat lens aldose reductase inhibition, Biosci. Biotechnol. Biochem., 63, 184-188
- Han, K.W., Lee, S.W., Han, K.S., Lee, D.J., Lee, B.E. and Jang, W.C. (2003) Antitumor activities to cytotoxicity of *Phellinus linteus* ethanol extract. J. Toxicol. Pub. Health, 19, 147-152
- Sa, J.H., Shin, I.C., Jeong, K.J., Shim, T.H., Oh, H.S., Park, S.K., Cheung, E.H., Kim, S.N., Kim, G.G., Chol, D.S., Kwon, Y.S. and Kim, C.M. (2002) Catechin content and antioxidative effect from *Rosa davurica* Pall. Kor. J. Pharmacog., 33, 177-181
- Yashida, T. (1989) Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids, V. Radical-Scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, Chem. Pharm. Bull., 37, 1919-1921
- Aburada, M. (1998) Recent advances in the pharmacology of Kampo medicine. p.275
- Jun, Y.Y., Cui, C.B., Lee, H.J., Moon, S.Y., Lee, D.S. and Ham, S.S. (2003) Antimutagenic and cytotoxicity effects of extract of *Eleutherococcus senticosus* Maxim fruits. Korean J. Food Preserv., 10, 394-400
- Cho, M.A., Lee, D.S., Kim, M.J., Sung, J.M. and Ham, S.S. (2003) Antimutagenic and cytotoxic effect of cordycepin isolated from *Cordyceps militaris*, Food Sci. Biotechnol., 12, 472-475
- Rubinstein, L.V. (1990) Comparison of in vitro anticancer drug-screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines, J. Natl. Cancer Inst., 82, 113-1041
- Kim, M., Kim, J.S., Hong, J.K., Ji, M.J. and Lee, Y.K. (2003) Cytotoxic activity of extracts from *Curcuma zedoaria*, J. Toxicol. Pub. Health, 19, 293-296
- 우원식, 한병운, 서대연, 서영배, 지형준, 장일무 (1996) 한국의 천연물과학 연구, 서울대학교출판부, p.9-374
- 임록계 (1999) 조선약용식물지(I) 현대약용식물편, 한국문화사, p.249
- Han, S.S., Lo, S.C., Choi, Y.H., Kim, M.J. and Kwak, S.S. (1999) Antioxidative compounds in extracts of *Acer ginnala* Max. Korean J. Medicinal Crop Sci., 7, 51-57
- Bock, K., LaCour, N.F., Jensen, S.F. and Nielsen, B.J. (1980) The structure of acertannin, Phytochemistry, 19, 2033.
- Hong, S.H., Song, C.Q., Sheng, Y., Zhang, F.J. and Xu,

- R.S. (1982) Studies on the antibacterial constituents of the leaves of *Acer ginnala* Maxim. Chemical Nat. Prod., Proc. Sinoam. Sym. p.244-247
17. Park, W.Y. (1996) Phenolic compounds from *Acer ginnala* Maxim., Kor. J. Pharm., 27, 212-218
18. Son, Y.K. and Han, Y.N. (2002) Isolation of Triterpenoid saponins from the stems of *Acer ginnala* Maxim. Kor. J. Pharmacog., 33, 301-304
19. Han, D.S., Han, S.S, Lee, C.O. and Rim, Y.S. (1999) Antitumor evaluation of methyl gallate isolated from *Acer ginnala* Max. J. Toxicol. Pub. Health, 15, 339-344
20. Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T. and Okada, M. (1997) Mutagenicities of N-nitrosoamines on *Salmonella*. Mutation Res., 48, 121-130
21. Scudiero, D.A., Shoemaker, R.H., Paul, K.D., Monks, A., Tiemey, 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, 4827-4836
22. Kim, J.B., Cui, C.B., Lee, D.S. and Ham, S.S. (2004) Studies on biological activity of leaves from korean *Rosa davurica* Pall. Korean J. Food Preserv., 11, 100-105

(접수 2004년 10월 26일, 채택 2004년 11월 30일)