

어성초 돌콩 추출물의 항암활성 및 항산화 활성 효과

이정호 · 김윤경 · 최문일¹⁾

원광대학교 약학대학 한약학과, 우석대학교 한의과대학 본초학교실¹⁾

Effects of Cytotoxic and Antioxidant of Methanol Extracts from Medicinal Plants

Jeong Ho Lee · Yun Gyoung Kim · Choi Mun Choi¹⁾

Dept. of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy Wonkwang University
Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Woosuk University¹⁾

This study was performed to determine the cytotoxic effect of methanol extract from *Houttuynia Cordata* and *Glycine soja*. The cell viability was determined by MTT method. Their cytotoxic activities against three cancer cell lines such as A549, MDA-MB-231 and SNU-C4 cell line were tested. Among them, The methanol extract of *Houttuynia Cordata* showed the strongest cytotoxic effect against SNU-C4 cells. These results suggest that the methanol extract of *Houttuynia Cordata* possessed a potential antitumor agent. The free radical scavenging activity using DPPH method was the strongest of *Houttuynia Cordata* methanol extract and ethyl acetate fraction.

Key words: *Houttuynia Cordata*, *Glycine soja*, A549, MDA-MB-231, SNU-C4, DPPH

서론

무분별한 농약의 사용, 부적절한 식품첨가물 등 환경성 화학물질의 사용증가, 환경오염, 잘못된 식생활습관, 흡연, 음주 등으로 인하여 암, 노화, 퇴행성 질환 등 각종 성인병의 발생 빈도가 높아졌다. 특히 환경성 화학물질에 의한 세포막의 손상은 세포의 기능을 원활하지 못하게 하고 DNA와 단백질을 손

상시켜 암, 노화, 각종 성인병을 유발한다. 이와 같이 난치성 성인병의 발생과정에서 superoxide anion (O_2^-), hydroxyl radical ($\cdot OH$), hydrogen peroxide (H_2O_2), singlet oxygen (1O_2) 등의 활성 산소종은 세포막 지방질의 과산화를 유발하여 막투과성의 변화를 초래한다.¹⁻³⁾ 생체내에서 이런 유해한 활성산소종이 정상적으로 소거되지 않을 때 free radical로 인한 oxidative stress가 생체내에 가해져 단백질, DNA, 생체막을 손상시켜 과산화지질이나 산화 분해물을 생성하고 생체조직을 손상시켜 노화, 동맥경화, 암 등의 성인병을 발생시키는 원인물질로 알려져 있

교신저자: 최문일, 우석대학교 한의과대학 본초학교실
(Tel: 063-290-1561 E-mail: cmi124@hanmail.net)

다.³⁵⁻⁷⁾ 따라서 생체내에서 일어나는 산화과정을 억제하고 예방하는 것이 질병예방의 일차적인 방법이 될 수 있다.

천연물은 전통적으로 민간약이나 질병의 예방에 사용되어 왔으며, 인체에 부작용이 적고 효과가 좋으므로 많은 연구자들에 의해 노화, 동맥경화, 암 등의 성인병을 예방하고 치료하는데 천연물을 이용하는 시도와 연구들이 진행되고 있다.⁸⁻¹³⁾

어성초는 (*Houttuynia cordata*) 삼백초과에 속하는 다년생초본식물로서 특유의 냄새를 함유하고 있어 몸의 신진대사를 도와 혈액을 맑게 하며 신장기능을 촉진시켜 체내독소를 배출하는 효능이 있으며 동의보감, 중약대사전, 본초강목 등에 사열, 해독, 이뇨, 진통, 지혈, 중금속중독을 완화, 염증 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다.¹⁴⁻¹⁶⁾ 어성초에 함유된 methyl-n-nonylketone과 lauryl aldehyde는 바이러스 활성을 억제하는 것으로 보고 되었으며, quercitrin은 카드뮴 독성을 완화시키는 것으로 보고 되었고,¹⁴⁾ 어성초 메탄올 추출물이 마우스의 백혈병 세포인 L1210세포, P388D1, Vero세포에 대하여 세포독성효과와 항균, 항진균 효과가 있는 것으로 보고 되었다¹⁾.

돌콩은 (*Glycine soja*) 일년생 덩굴성 콩과(Fabaceae)의 한해살이 덩굴식물로서 갈색 털이 있고 줄기는 가늘고 길으며 잎은 어긋나고 긴 잎은 3출복엽(三出複葉)이며 작은잎은 달걀모양으로 긴 타원형으로 되어있다. Catechin등이 함유되어 있으며, 논밭둑, 밭, 과수원, 초지, 도로변, 공한지 등에 자라고, 간보호 작용, 해독, 신체허약, 도한, 근골동통 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 차등은 돌콩에 함유된 epicatechin이 항산화력이 우수하다고 보고하였다.¹⁷⁻¹⁸⁾

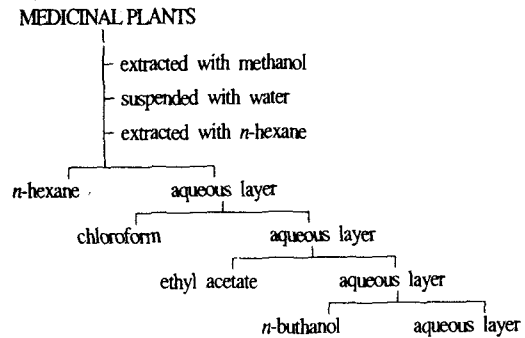
이에 본 연구에서는 어성초와 돌콩 추출물을 이용하여 A549 (lung cancer), MDA-MB-231 (breast cancer), SNU-C4 (colon cancer)의 암세포주에 대하여 MTT 정량분석법으로 세포독성을 검색하였으며, DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성을 측정

하였기에 보고하고자 한다.

실험

1. 재료

실험에 사용된 약재인 어성초는 전북 익산시 팔봉동에서 채취하였고, 돌콩은 충남 공주군 반포면에서 채취하여 외부형태를 검정한 후, 음건하여 각각을 methanol로 추출하였으며, methanol로 추출한 분획물을 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol로 분획하여 4℃ 냉장 보관하여 사용직전에 에틸알콜로 동량희석하여 시료로 사용하였다(Scheme 1).



Scheme 1. Extraction and fractionation of medicinal plants.

2. 시약 및 기기

Fetal bovine serum(FBS), Rosewell Park Memorial Institute(RPMI)-1640 배지, trypsin-EDTA는 Gibco제 GR급을 사용하였으며, 3-(4,5-dimethylthazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT), dimethylsulfoxide(DMEM)등은 Sigma사에서 구입하였으며. 세포배양은 CO₂ incubator(Shellab Co., U.S.A.), Turk형 혈구계산기, 도립현미경(Inverted Microscope, Olympus), ELISA reader(Spectra Max 250, U.S.A.)를 사용하였다.

3. 암세포 배양

A549(lung cancer), MDA-MB-231(breast cancer), SNU-C4(colon cancer)은 CO₂ 배양기(37 °C, 5 %)에서 10 % FBS와 1% antibiotics가 포함된 RPMI-1640 배지를 사용하여 배양하였다. 각 세포는 약 72시간을 주기로 trypsin-EDTA 용액을 사용하여 계대 배양하여 포집하여 사용하였다.

4. 세포독성 측정

MTT 검정법^{19,20}으로 96 well plate에 A549, MDA-MB-231, SNU-C4를 2×10⁴ cells/ml로 분주시켜 48시간동안 배양한 후 시료의 농도를 25, 50, 100, 150 µg/ml로 처리하여 24시간동안 배양시켜 상등액을 제거하고 tetrazolium bromide salt 0.2 µg/ml 농도를 처리한 후 3시간동안 배양시켰다. 생성된 formazan 결정을 dimethylsulfoxide에 용해시켜 ELISA reader을 이용하여 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 결과 분석은 실험군의 평균 OD 값을 구하여 대조군(100% 생존군)의 평균 OD값에 대한 백분율로 환산하였다.

5. DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성

자유 라디칼인 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH)을 사용한 항산화활성 측정방법^{12,21}을 이용하여 시료를 methanol에 5mg/ml의 농도로 녹인후 희석하여 사용하였다. 각 추출물이 첨가된 methanol용액 0.8ml에 0.35 mM DPPH 시약 0.2ml을 가하고 잘 섞은 후 암소에서 10분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 IC₅₀ (µg/ml)은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 값을 50 % 감소시키는 시료의 농도를 나타냈다.

6. 통계학적 해석

실험결과와 통계학적처리는 Student's t-test를 이용하였으며, p-value가 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 수득물

어성초 70 g을 methanol을 이용하여 상온에서 24시간 3회 반복 추출한 후 0.4 µm 필터로 여과시켜 진공 증류기로 35 °C에서 감압 농축시켰다. 계통분획은 methanol 추출물 78.25 g을 물 2,000 ml로 현탁하여 n-hexane로 3회 반복 분획한 다음 chloroform, ethyl acetate, butanol 순으로 각각 3회 반복 분획하여 무수망초로 탈수시킨 후 감압농축하여 각 분획물을 얻었다. 돌콩은 시료 30 g을 이용하여 어성초 추출법과 동일한 방법으로 추출 및 분획하였다. 어성초와 돌콩 메탄올 추출물과 분획물의 수득율은 Table. 1과 같다.

Table 1. Extracts and fractions yield of *Houttuynia cordata* Thumb and *Glycine soja*.

solvent	<i>Houttuynia cordata</i>		<i>Glycine soja</i>	
	Mass (mg)	Yield (%)	Mass (mg)	Yield (%)
methanol extract	78,250	11.18	2,340	7.80
n-hexane fraction	29,960	39.95	1,068	45.64
chloroform fraction	1,760	2.35	59	2.52
ethyl acetate fraction	2,460	3.28	71	3.03
n-butanol fraction	17,800	23.37	397	16.97
water fraction	22,600	30.13	562	24.02

2. 세포독성

어성초의 메탄올 추출물을 처리한 후 암 세포주들의 *in vitro* 세포 생존율을 MTT 정량분석법을 이용하여 측정하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 폐암 세포인 A549 세포주와 유방암 세포인 MDA-MB-231 세포주에서는 어성초 추출물의 처리농도가 증가해도 세포 생존율이 약간만 감소하여 미미한 세포독성을 나타내었다.

결장암세포인 SNU-C4 세포주에서는 어성초 메탄올 추출물에서도 처리농도가 증가할수록 세포 생존

율이 감소되어 세포독성 효과를 보였으며, 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 처리농도에서는 세포 생존율이 77.01 %로 세포독성을 나타내었다^{8-10,12,22}). 어성초 메탄을 추출물이 SNU-C4 세포주에서 세포독성이 나타났다.

어성초 메탄을 추출물이 SNU-C4 세포주에서 세포독성을 보였으므로 어성초 메탄을 추출물을 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol, 물 순서로 용매 분획을 하여 얻은 분획물을 SNU-C4 세포주에 처리하여 세포 생존율을 측정하였다. Fig. 2에서 보는바와 같이 각 분획물의 처리농도가 증가함에 따라 세포독성도 증가하는 경향을 보였으며, 극성이 높은 용매로 부탄올 분획물과 물 분획물에서는 세포독성이 낮게 나타났다. 클로르포름 분획은 대조농도 0 ~ 50 $\mu\text{g/ml}$ 처리농도에서는 세포독성이 증가하지 않았으나 100 ~ 150 $\mu\text{g/ml}$ 처리농도에서는 세포독성이 증가하는 경향으로 나타났다. 비극성 용매인 헥산 분획물은 모든 처리농도에서 항암활성이 나타났다. 처리농도가 150 $\mu\text{g/ml}$ 에서 44.5 \pm 6.47%의 가장 높은 세포독성이 나타났다. SNU-C4 cell의 세포독성은 헥산 분획물 > 클로르포름 분획물 > 에틸 아세테이트 분획물 > 부탄올 분획물 > 수층 액기스 순으로 세포독성이 나타났다^{8-10,22}).

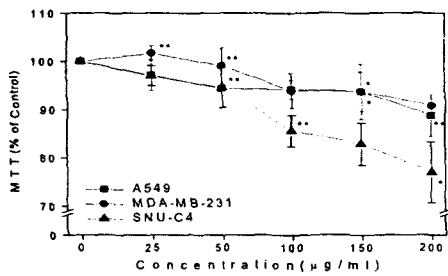


Fig 1. Effect of *Houttuynia cordata* extracts on the viability of cancer cells. The cells were cultured in the presence of various concentrations of *Houttuynia cordata* extracts for 48 hrs. The viability of the cells were measured by MTT assay. Result were expressed as % control and data were mean \pm S.D. of at least five different experiments. Significantly different from the control value: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Student's t-test).

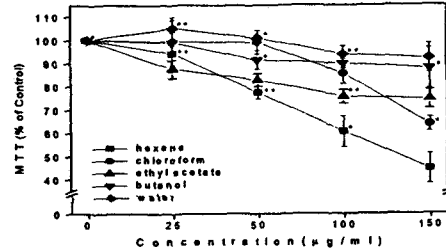


Fig 2. Effect of fraction of *Houttuynia cordata* methanol extract on the viability of SNU-C4 (colon cancer) cells. The cells were cultured in the presence of various concentrations of *Houttuynia cordata* fractions for 48 hrs. The viability of the cells were measured by MTT assay. Result were expressed as % control and data were mean \pm S.D. of at least five different experiments. Significantly different from the control value: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Student's t-test).

들콩의 메탄을 추출물을 처리한 후 암세포주들의 *in vitro* 세포 생존율을 MTT 정량분석법을 이용하여 측정하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 폐암세포인 A549 세포주에서는 들콩 추출물의 처리농도가 증가함에 따라, 세포 생존율이 서서히 감소하여 미미한 세포독성 보였다.

결장암세포인 SNU-C4세포주에서는 A549 세포주와 마찬가지로 처리농도가 저농도에서는 세포독성이 A549 세포주와 같이 낮은 세포독성을 나타냈으나 고농도로 증가할수록 세포독성이 증가하는 경향을 보였으나 높은 세포독성은 나타나지 않았다^{3,10-12}) 그러나 유방암 세포인 MDA-MB-231 세포주에서는 들콩 추출물의 처리농도가 증가할수록 세포생존율이 감소하였으며, 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 처리농도에서는 세포 생존율이 76.06 %로 세포독성을 나타내었다.

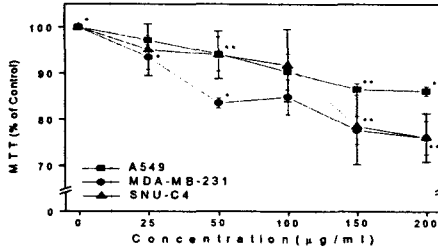


Fig 3. Effect of *Glycine soja* extracts on the viability of cancer cells. The cells were cultured in the presence of various concentrations of *Glycine soja* extracts for 48 hrs. The viability of the cells were measured by MTT assay. Result were expressed as % control and data were mean \pm S.D. of at least five different experiments. Significantly different from the control value: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Student's t-test).

분획을 하여 얻은 분획물을 농도별로 처리하여 IC₅₀ 값을 측정하였다. 부탄올 분획물에서 87.61 µg/ml의 항산화 활성이 나타났으나 어성초 추출물과 분획물보다 낮은 항산화 활성을 나타내었다 (Table 3).

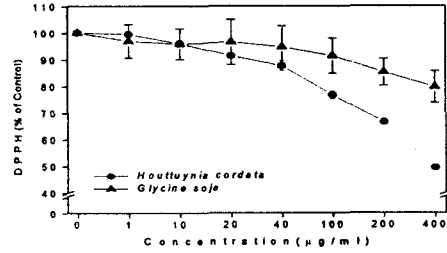


Fig. 4. DPPH free radical scavenging activities of methanol extracts from *Houttuynia cordata* Thumb and *Glycine soja*.

3. DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성

전자공여능은 항산화물질로부터 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하는 DPPH의 특성을 이용한 항산화활성을 측정하였다. 먼저 어성초와 돌콩의 메탄올 추출물을 농도별로 처리하여 DPPH방법으로 항산화 활성을 측정한 결과는 Fig.4과 같다. 어성초 메탄올 추출물은 처리농도가 증가함에 따라 항산화 활성이 증가하는 경향을 나타냈으나 돌콩 메탄올 추출물은 처리농도가 증가하여도 항산화 활성이 증가하는 경향은 낮게 나타내었다.^{12,13,16)}

어성초 메탄올 추출물을 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, 물의 순서로 용매 분획을 하여 얻은 분획물을 농도별로 처리하여 IC₅₀ 값을 측정하였다. 메탄올 추출물과 용매별 분획물의 IC₅₀ 값을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 부탄올 분획물과 에틸아세테이트 분획물에서 좋은 활성을 보였으며 특히, 에틸아세테이트 분획물은 12.61 µg/ml로 나타나 BHA 18.48 µg/ml와 ascorbic acid 17.39 µg/ml보다 높은 항산화 활성을 나타내었다.^{12,17,18,23)} 돌콩 메탄올 추출물도 어성초와 마찬가지로 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, 물의 순서로 용매

Table 2. DPPH free radical scavenging activities of methanol extract and solvent fractions from *Houttuynia cordata* Thumb.

Extract and Fraction	IC ₅₀ (µg/ml)
Methanol extract	221.63 \pm 42.15
n-hexane fraction	653.52 \pm 195.67
chloroform fraction	649.44 \pm 79.53
ethyl acetate fraction	12.61 \pm 0.90
buthanol fraction	84.02 \pm 16.31
water fraction	237.72 \pm 175.91
BHA	18.48 \pm 1.32
ascorbic acid	17.39 \pm 1.79

Table 3. DPPH free radical scavenging activities of methanol extract and solvent fractions from *Glycine soja*.

Extract and Fraction	IC ₅₀ (µg/ml)
Methanol extract	274.76 \pm 73.93
n-hexane fraction	235.14 \pm 195.67
chloroform fraction	124.76 \pm 35.17
ethyl acetate fraction	167.22 \pm 38.41
buthanol fraction	87.61 \pm 11.18
water fraction	461.73 \pm 187.91
BHA	18.48 \pm 1.32
ascorbic acid	17.39 \pm 1.79

결론

한국산 생약재중 어성초, 들콩을 메탄올로 추출하여 A549, MDA-MB-231, SNU-C4 세포주를 이용하여 암세포주에 대한 세포독성과 항산화 활성을 본 결과는 다음과 같다.

1. 어성초의 메탄올 추출물에서는 SNU-C4 세포주에 대한 세포독성이 200 µg/ml에서 77%의 세포독성이 나타났으며, 헥산 분획물에서 처리농도가 150 µg/ml에서 44.5 %의 가장 높은 세포독성이 나타났다.
2. 들콩의 메탄올 추출물에서는 MDA-MB-231 세포주에서 200 µg/ml에서 76 %의 세포독성이 나타났다.
3. 어성초의 메탄올 추출물이 항산화 활성을 보였으며, 에틸아세테이트 분획물은 IC50 값이 12.61 µg/ml 으로 BHA, ascorbic acid 보다 높은 항산화 활성을 나타내었다
4. 들콩의 메탄올 추출물은 항산화 활성이 낮았으며, 부탄 분획물에서 IC50 값이 87.61 µg/ml 으로 어성초 메탄올 추출물과 분획물 보다 낮은 항산화 활성을 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 본 결과 어성초 추출물이 들콩 추출물보다 암세포주에 대한 세포독성과 항산화 활성이 좋은 것으로 사료되며, 어성초의 에틸아세테이트 분획물을 더 분리하여 항산화 활성을 갖는 물질을 분리하고자 한다.

참고 문헌

1. Lee, J. H., Park, N. K., Yang, E. Y., Lee, H. O., Han, D. M. and Baek, S. H. Studies on the cytotoxicity and antimicrobial effects of the extract of *Houttuynia Cordata* (IV). Kor. J. Oriental

Preventive Medical Society. 2000;4(1):144-151.

2. Kim, S. J., Cho, Y. S. and Park, S. W. : Cytotoxicity of methanol extracts of edible herbs against L1210 cells with the changes of antioxidant enzymes activities, Kor. J. Pharmacogn., 2002; 33(4):376-383.
3. Lee, H. K., Kim, J. S., Kim, N. Y., Kim, M. J., Park, S. U. and Yu, C. Y. : Antioxidant, Antimutagenicity and anticancer activities of extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* KITAMURA, Korean J. Medicinal Crop Sci. 2003; 11(1):53-61.
4. Cui, C. B., Lee, D. S. and Ham, S. S. : Antioxidative, Antimutagenic and cytotoxic effects of *Rhodiola sachalinensis* extract, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2003;32(2):211-216.
5. Jin, L. H., Han, S. S. and Choi, Y. S. : Antioxidant effects of the extracts of *Acanthopanax senticosus*. Kor. J. Pharmacogn. 2002;33(4):359-363.
6. Lee, J. W., Do, J. H. and Shin, K. H. : Antioxidant activity of the water soluble browning reaction products isolated from korean Red Ginseng, 1. DPPH radical and hydrogen peroxide scavenging. J. Ginseng. Res. 1999;23(2):176-181.
7. Kim, C. H., Park, J. H., Lim, J. K., Lee, K. J., Chung, G. Y. and Jeong, H. J. : The activity of antioxidants and suppression of cancer cell proliferation in extracts of *Orostachys japonicus*. A. Berger. Korean J. Medicinal Crop Sci. 2003; 11(1):31-39.
8. Park, J. H., Park, B. G., Kim, M. J., Park, S. G. and Kim, J. H. : Effects of tuber position and number of nodes on growth of *Saururus Chinensis* Baill. Korean J. Medicinal Crop Sci. 1998;6(4):286-293.
9. Park, S. K., Oh, G. J., Bae, C. I., Kim, H. J., Han, W. S., Chung, S. G. and Cho, E. W. : Studies on the cytotoxic constituent of *Saururus chinensis*

- (LOUR) BAILL, Yakhak Hoeji. 1997;41(6):704-708.
10. Lee, S. J., Lee, M. K., Choi, G. P., Yu, C. Y. Roh, S. K., Kim, J. D., Lee, H. Y. and Lee, J. H. : Growth enhancement and cytotoxicity of *korean mistletoe* fractions on human cell lines. Korean J. Medicinal Crop Sci. 2003;11(1):62-70.
 11. Kim, M. J., Kim, J. S., Jeong, D. M., Ham, S. S. and Yu, C. Y. : Effect of antioxidant, antimutagenicity and anticancer of root extract from *Ilexis denata* Nakai, Korean J. Medicinal Crop Sci. 2002;10(3):222-229.
 12. Hwang, S. K., Lee, H. C., Kim, C. K., Chun, H. J., Jeung, S. I and Jeon B. H. : Induction of apoptosis in Jurkat T Lymphocytes by extract of *Ailanthus altissima*, Kor. J. Pharmacogn. 2001;32(4):274-279.
 13. Choi, E. Y., Oh, H. J., Park, N. K., Chun, H. J., Ahn, J. W., Jeon, B. H., Han, D. S., Lee, H. D. and Baek, S. H. : Screening of Cytotoxicity and Antimicrobial effects of extracts from *Atractylades macrocephala* Koidz, Kor. J. Orient. Physiol. & Pathol. 2002;16(2):348-352.
 14. Lee, J. H., Jeong, S. I., You, I. S., Kim, S. K., Lee, K. N., Han, D. S., and Baek, S. H. : Theinhibitory effects of the methanol extracts of *Houttuynia cordata* THUNB against cadmium induced cytotoxicity (V). Kor, J, Pharmacogn. 2000;32(1):61-67.
 15. Lee, J. H., Lee, K. N., Lee, C. W., Chun, H. J., You, I. S. Lim, J. A. and Baek, S. H. : The inhibitory effects of quercitrin from *Houttuynia Cordata* against cadmium induced cytotoxicity (VII). J. Korean Chemical Society. 2003;47(2):175-178.
 16. Nishiya. H., Ishiwata. K., Komatsu. K., Nakata. O., Kitamura. K., Fujh.S.: Platelet aggregation inhibitors from *Jyu-yaku* (*Houttuyniae*Herb). *Chem. Pharm. Bull.* 1988;36(5):1902-1909.
 17. Cha, B. C., Park, H. J., Lee, E., Cho, M. Y. and Rhim, T. J. : Comparison of antioxidant and composition in *Glycine max* Merr and *Glycine soja* Siebold et Zucc. Kor, J, Pharmacogn. 1996;27(1): 19-195.
 18. Chung, S. D., Hong, W. H. and Myong, G. C. : Genetic diversity in korean populations of *Glycine soja* (Fabaceae), *J. Plant Biol.* 1995;38(1):39-45.
 19. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* 1983; 65:55-63.
 20. Keepers, Y. P., Pozao, P. E., Peters, G. T., Otte, J. A., Winograd, B. and Pinedo, H. M. : Comparison of the sulforhodamine B protein and tetrazolium (MIT) assays for *in vitro* chemosensitivity testing. *Eur. J. Cancer.* 1991;27:897-900.
 21. Xiong, Q., Kadota, S., Tadota, T. and Namba, T. : Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*, *Biol. Pharm. Bull.* 1996;19: 1580-1585.
 22. Kim, Y. I., Lee, S. H. and Cho, T. S. : Isolation of anticancer agents from the leaves of *Platycarya strobilacea* S. et Z. Kor. J. Phramacogn. 1996;27(3):238-245.
 23. Park, J. S., Shin, M. K., Shn, H. S., Park, R. K., Kim, M. S and eong, W. H. : Green tea(-)EGCG induces the apoptotic death og lung cancer cells via activation of c-Jun N-terminal 1 and activating protein-1. *Korean Nutrition Society.* 2002;35(1): 53-59.
 24. Nam, S. H. and Kang, M. Y. : Screening of antioxidative activity of legume species. *J,Korean, Soc, Agric, Chem, Biotechnl.* 46(1):32-38.
 25. Mun, Y. J., Nam, Y. J., Lee, K. G., Chol, D. H., Lee, S. W., Ahn, S. H., Chol, M. K. and Woo, W. H. (2002): The water extract of *caesalpinia sappan* induces apoptosis on human lung cancar call line, A549 cells. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology.* 2002;16(3):521-527.