

석류(*Punica granatum*)의 Phytoestrogen 및 항암 활성 성분

송방호* · Tran Hoang Ngoc Ai · 배수영
경북대학교 생물교육과

Pomegranate (*Punica granatum*) as Resources of Phytoestrogen and Anticancer Substances. Song, Bang-Ho, Hoang Ngoc Ai Tran, and Soo-Young Bae. *Department of Biology Education, Kyungpook National University, Taegu, 702-701, Korea - Punica granatum, L. (Pomegranate)* has 613 seeds which accidentally corresponds to the 613 commandments in the Bible. Accordingly, the fruit has been worshipped by the Jewish and other religious people from the ancient. Pomegranate's seed, peel and juice contain a variety of ethnomedical components so much as the sum of three kinds of other common fruits. The number of published papers related to the pomegranate in recent 7 years flourished 7 times more than before at the bases of Medline record. Since the containments of estrogen, as 17 α -estradiol, 17 β -estradiol, estrone, and estradiol, etc., in pomegranate have been reported, public interests and commercial values of pomegranate arose considerably. The report was disproved later, however, merits of this fruit remained yet; clinical efficacy for preventing and remediatir g cancers including breast and prostate cancers by oral administration of the juice, seed oil, and peel extract is still believed to be true. In this review, target components of pomegranate such as antioxidants, anticancers, antiestrogens and ethnomedical components were analyzed and discussed along with examining its pharmaceutical efficacy and prescription to postmenopausal lesion, cardiosclerosis, cosmetic beautification, viral and allergic symptoms, and diabetes mellitus, etc.

Key words: *Punica granatum* L., pomegranate, anticancer, antiestrogen, antioxidant, ethnomedicine. phytoestrogen

서 론

석류(*Punica granatum*, L., Pomegranate)는 석류속(*Punica*)의 두 가지 종인 *P. granatum*과 *P. protopunica* 가운데 하나이다[5]. 그 종자가 613개로 구성되어 있어(Fig. 1) 구약의 율법이 613항으로 구성되어 있음과 우연히 일치되었기에 씨앗 하나가 하나의 율법을 의미한다는 신앙심으로 유대인들에게는 신성시 되어 왔으며 기타 여러 종교에서도 성상의 상징으로 보편화되어 왔다[47]. 특히 석류는 생명, 수명, 건강, 기아, 다산, 지식, 도덕성, 불후성, 영성 등의 신성에 대한 상징성을 나타내어 왔다. 열매 안에는 많은 종자가 들어 있어 다산을 상징한다. 혼례복인 활옷이나 원삼에 석류·포도·동자 문양이 많은데, 열매를 많이 맺는 석류·포도처럼 아들을 많이 낳으라는 의미가 담겨 있다. 나무 열매는 종자, 주스, 과일 껍질, 잎, 꽃, 나무 껍질, 뿌리 등으로 나뉘어져 각각 다른 약학적인 활성을 띤다. 예로써 주스와 과일 껍질은 강한 항산화적 성질을 나타내며 종자유는 약한 항 에스트로겐활성을 나타내어 여성의 폐경기 장애를

해소시켜 주는 것으로 알려져 있다. 이들은 또한 암세포 증식, 세포 주기, 침윤, 혈관형성 등의 간접인자로서 항암 활성을 나타내기도 한다. 식물성 기원의 소염제는 물론 광범위하게 암의 방어 및 치료효과와 연관되어 주요한 근원적인 역할을 나타낸다. 폐경기 여성의 장애 완화, 유방암 및 전립선암 예방, 강력한 동맥경화성의 병반 분해, 천연에서 가장 강력한 항산화 활성, 등과 연관되어 그 기능성 성분은 의학, 치료, 수명, 배란 등에서 개발 가능성이 널리 제시되어 왔다. 또한 그 생물학적 유효성분이 세 종류의 다른 식물에 있을 만큼의 각기 다른 화학적 성분들이 석류 하나의 종자, 주스, 그리고 껍질에 함유되어 있어 파워 과일(power fruit) 또는 기능성 과일(functional fruit)로 간주되어 왔다.

본고에서는 이러한 성분들이 다량 함유된 신비의 과일 석류의 생리 활성 성분을 검색한 후, 유효성분의 본체, 약효, 응용 및 치료효과 등을 종합적으로 망라하였기에 그 결과를 제시하고자 한다.

석류의 성상, 품종 및 재배현황

석류는 쌍떡잎식물로 석류나무과의 낙엽소교목이다. 학명은 *Punica granatum* (*granatum*은 원래 *granum*으로 종자가 많다는 의미)으로 우리나라에는 고려 초기에 중국에서 들어

*Corresponding author
Tel: 82-53-950-5913, Fax: 82-53-950-6809
E-mail: bhsong@knu.ac.kr



Fig. 1. Bloomed flowers of power fruit pomegranate, and the ripened peels with flourished arils. Pomegranate (*Punica granatum*, L.) has 613 seeds which accidentally corresponds to the 613 commandments of the Bible. Power fruit represents the synergistic effect of triple combination of antioxidant, chemoprevention, and phytoestrogenic activities.

은 것으로 추정된다[1]. 현재 중부와 남부지방에서 정원수와 과수로 재배한다. 나무의 높이는 5~7m이며 작은 가지는 횡단면이 사각형이고 털이 없으며 짧은 가지 끝이 가시로 변한다. 잎은 마주나고 길이 2~8cm의 긴 타원 모양 또는 긴 달걀을 거꾸로 세운 모양이며 양끝이 좁고 가장자리가 밋밋하며 털이 없고 잎자루가 짧다. 꽃은 양성화이고 5~6월에 붉은 색으로 피며 가지 끝에 1~5개씩 달린다. 꽃받침은 통 모양이고 6개로 갈라진다. 꽃잎은 6개이고 기왓장처럼 포개진다. 수술은 많고 암술은 1개이다. 씨방은 꽃받침 속에 묻혀 있으며 2층으로 구성되고, 위층에 5~7실, 아래층에 3실이 있다(Fig. 1). 열매는 둥글고 지름이 6~8 cm이며 끝에 꽃받침 조각이 붙어 있고 9~10월에 갈색이 도는 노란 색 또는 붉은 색으로 익는다. 열매의 안쪽은 여러 개의 방으로 나뉘고 각 방에는 소낭이 들어 있는데, 소낭은 즙이 많은 붉은빛의 과육이 종자를 둘러싼 모양이다. 과일은 단단하고 노르스름한 껍질이 감싸고 있으며, 과육 속에는 많은 종자가 있다. 먹을 수 있는 부분이 약 20%인데, 과육은 새콤달콤한 맛이 나고 껍질은 약으로 쓴다.

석류는 이란·아프가니스탄·히말라야 등이 원산지로서 이스라엘, 터키, 그리스, 이탈리아, 스페인에서, 동쪽으로는 히말라야 주변의 인도와 중국을 거쳐, 일본, 한반도에까지 재배되고 있으며, 과수원으로 재배되는 지역은 미국 서부 캘리포니아 지역, 아랍국가, 구 동구권, 이스라엘, 그리스, 스페인, 중국 등 지중해 연안 아열대 기후지역이다. 이스라엘의 경우 약 250 ha에 걸친 면적에서 과수원화 되어 재배되거나 우리나라에서는 남쪽으로는 제주도에서 북쪽 휴전선지대까지 골고루 분포되어 있으며 주로 농가의 담장이나 도시의

정원수로써 재배된다. 대량으로 재배되는 지역은 없었지만 최근 석류산업이 클로즈업 되면서 서서히 남쪽 광양에서 과수원 형태의 재배가 시작되고 있다.

현재 이스라엘의 경우는 석류를 년 3000여톤 이상 수확하며 과수원 단위로 재배하는 것으로 최근에는 유기농법으로 재배하는 경우도 있다. 유기농법 재배시는 과수원에 잡초가 우거져 있으며 과수원 전체를 망으로 덮어 해충이나 조류의 공격으로부터 보호하며 천적을 이용하여 살충효과를 얻고 있다(Fig. 2). 품종별로는 약 100여종이 산재해 있으며 (Newe Ya'ar experimental station of the Agricultural Research Organization), 구 동구권까지 포함하여 약 1000여종이 재배되고 있는 것으로 전해진다. 주요 품종은 Table 1, Fig. 3과 같으며 품종에 따라 과일의 모양이나 색깔에 다양성이 표출되고 있다. 국내 재배품종은 그 맛에 따라 신석류(신맛이 강한 산과), 단석류(단맛이 강한 감과)로만 구분되고 있으나 과일의 크기가 기후 차이로 인하여 수입품 중등산에 비해 훨씬 작은 편이다. 국내에서 석류 재배에 대한 체계적인 연구결과의 보고는 없으나, 경남 진양, 함양, 밀양, 울산 등지에서 재배되는 10~14년의 수령을 가진 석류에 대하여 발아, 전엽, 만개기 및 숙기, 주지수, 수량 등 생육 상황과 과중, 과립중, 당도, 산함량 등에 대한 과실특성이라든가[2], 과일의 성숙에 따른 성분변화에 대하여 보고되었다[3]. 국내 산 석류는 매년 9월말에서 10월 중순사이에 수확하나 이스라엘산은 8월초부터 10월 중순까지 수확하여 크리스마스 축제일까지 저장하면서 유대인의 안식일에 주로 장식용으로 사용되고 있다.



Fig. 2. Pomegranate orchard in Israel under flowering and fruiting. Organic cultivation (upper), and normal fertilization and pesticide cultivation (lower). Denote thickly grown weeds at the bottom of the pomegranate orchard by pesticide-free cultivation (upper left), and covered whole orchard with net to prevent attack from harmful birds and insects (upper right). These organic cultivations contrasted to the normal clean bottom soil by herbicide weeding (lower right) and pesticide cultivation that exhibits plentiful flowering per unit area of leaves (lower right).

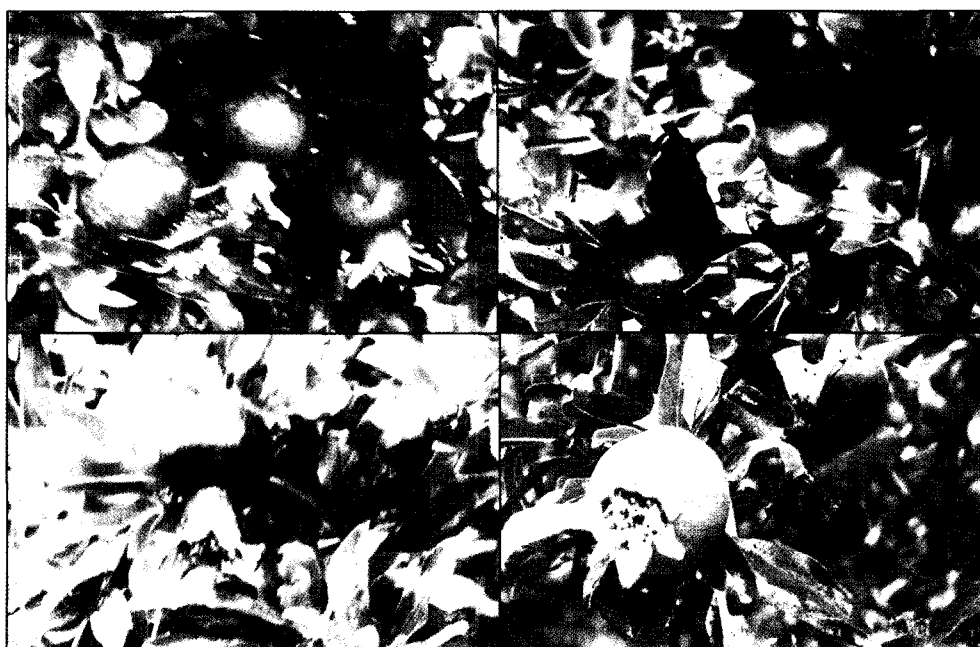


Fig. 3. Fruits shapes and colors of various pomegranate cultivars. Over 100 cultivars were cultivated around the Mediterranean area. Cultivars were arranged in the order of Wonderful, Pasha, Shami, Hershkovits from left to right and upper to lower.

Table 1. Pomegranate cultivars for seed oil extraction and phytoestrogen qualification.

Types	Cultivars ¹	Sources
sour	classic wonderful	Ako
sour	paras 4	Sde Eliahu
sour	paras 9	Sde Eliahu
	Wonderful	Ako
sweet	mutant 1 (sour color)	Sde Eliahu
sweet/soft	malesi	Shva-Am
sour	shami	Shva-Am
sour	wonderful var.	Ako
sour	nabat	Shva-Am
sweet	rosh ha pered	Sde Eliahu
sweet	kabri (k2) (rosh hapered var)	Sde Eliahu
sour	mutant 2	Sde Eliahu
sweet	PK	Pekiin
sour	Hershkowitz	
	rosh hapered var.	
sweet	black (bahaim)	Ako
	Pasha	

¹Pomegranate seeds of various cultivars were provided by Dr. E. P. Lansky as a kind gift.

석류의 부위별 활성 성분

석류에는 항산화, 항에스트로겐 및 항암성분 50여종 이상이 함유되어 있다. 석류는 종자, 주스, 그리고 껍질에서 유도된 다양한 성분들의 보고이다. 종자유에 복합지방산이 함유된 단지 여섯가지 식물 중의 하나이기도 하다[56]. 주스는 천연에서 가장 강력한 항산화제 중의 하나이며, 동맥경화성의 병반을 분해하는 강력한 성질이 있다. 석류나무의 수피, 잎, 과일표피에는 ellagitannins과 gallotannins이 풍부하고, 잎에는 apogenin, luteolin등이 배당체로 함유되어 있다. 껍질(peel, 과일의 30% 이상), 종자(seed), 가식부분(edible part, 이 부분은 종자를 덮고 있는 과육부분으로 과일의 20%로써 주스, 발효즙, 와인의 원료임)등에 함유된 항산화, 항에스트로겐, 및 항암성분은 Table 2에서 요약된 바와 같이 약 50여종 이상이 보고되고 있다.

주스는 청량제, 혈액 톤으로 쓰여지는데, anthocyanins, 강력한 항산화성 flavonoid가 주성분이며 주스의 변색되는 색깔은 성숙과정에서 점차 더 많이 침착되나 압착 추출 후에는 감소된다[62]. 주스와 종자에는 Fe가 많이 있으나 Ca, Ce, Cl, Co, Cu, K, Mg, Mn, Mo., Na, Rb, Se, Sn, Sr, Zn 등도 미량 함유되어 있다[49]. 종자, 주스, 껍질 등의 혼합물은 유산 방지나 임신과도 연관되며, 가식 부분에는 cyanidin (anthocyanin), delphinidin (3-glucosides, 3,5-digluco-side의 anthocyanin), caffeic acid (phenolic acid), chlorogenic acid (phenolic acid), pelargonidin외에 citric acid

(1.5%), ascorbic acid, 수용성 비타민(B1 · B2 · 나이아신) 등 항산화제가 다량 함유되어 있다.

과피(pericarp, peel, rind, hull 용어가 동의어로 쓰임)는 인도, 투니지아, 과테말라 등지에서는 건조 과일, 껍질, 열 추출물을 수렴제나 이질, 구충제, 또는 궤양 등의 질환에 응용한다. 탄닌과 flavonoids는 재배한 과일보다 야생석류의 과피에 더 많이 함유되어 있다[68]. 가수분해성 탄닌으로 punicalagin과 punicalin, 탄닌산으로 gallic acid, ellagic acid (EA), flavone으로 luteolin, quercetin, flavonol로써 kaempferol, flavonone으로 naringenin 등이 있으나 부분적으로 복합당질도 함유되어 있다[35].

종자유는 지방산 성분이 95%이상이며, 그 중 99%는 중성지방으로 종자 중량의 12-20%를 차지한다. 주된 지방산은 conjugated octadecatrienoic acids로써 punicic acid가 약 65.3%, palmitic acid 4.8%, stearic acid 2.3%, oleic acid 6.3%, linoleic acid 6.6%, 미동정물질 14.2%가 함유되어 있으나[78], 본 연구에서 그 미동정물질 가운데 하나가 α -eleaosteric acid로 약 5% 함유되어 있음이 새로이 확인되었다[92, 93]. 발효 종자의 chloroform 획분에는 1-O-trans, cis-, trans-9,11,13-octadecatrienoyl glycerol, 1-O-isopentyl-3-O-octadec-2-enoyl glycerol, cis-9-octadecenoic, octadecanoic, 및 eicosanoic acid 등이 LC/MS에서 검출되었다[22].

인도, 쿠바에서는 알카로이드가 많은 나무껍질과 뿌리의 추출물을 민간약으로 쓰고 있으나 함유물질 또는 약효성분의 명확한 동정이 요구된다. 꽃에는 과피에 많은 gallic acid 나 종자의 ursolic acid가 함유되어 있으며 꽃 고유의 특이한 성분도 함유되어 있어 당뇨병 치료에도 응용된다[32, 41]. 꽃의 에탄올 추출물로부터는 EA, 3,3',4'-tri-O-methylgallagic acid, ethyl brevifolincarboxylate, ursolic 및 maslinic acids, daucosterol 등을 비색법으로 분석하였다. 그 가운데 maslinic acids는 항산화성으로 저밀도 지방에 대한 감수성을 나타낸다[98]. 잎에는 과피처럼 특이한 탄닌 즉, 황체호르몬성 및 불완전화제성 flavone인 apigenin의 배당체가 함유되어 있다[101]. 석류나무는 결실기에는 N, 성숙기에는 K, 노년기에는 Ca, Fe 등이 잎에 다량 함유된다. 북반구에서는 7, 8월의 개화기와 결실기에 N과 K가 감소하며 과일의 성숙기에는 Mg, Fe, Zn 등과 함께 N는 훨씬 더 감소한다[65].

석류의 과다 복용시 초래되는 부작용은 탄닌 또는 알카로이드에 기인

석류는 수천년 동안 많은 민족들에 의해 큰 어려움 없이 애용되어 왔기 때문에 안전한 것으로 간주되어 왔으나 최근 과일 추출물이나 종자유의 복합복용에 대한 알레르기 유발이나 종자를 대강 갈아서 장기 과다 복용시 식도암이 일어났다는 보고도 있다[24, 29]. 석류 수피나 과일 또는 과일껍질의 달인 물을 마신 후 다소 약하기는 하지만 급성 소화기염증이 일어난 경우도 있는데 이는 과량의 탄닌 또는 알카

Table 2. Pomegranate components category and distribution.

Components	Peels	Seed	Edible part
Flavones	catechin, epicatechin luteolin, quercetin		
Flavonol	kaempferol, rutin		
Flavanones	naringenin, naringin		
Phytoestrogens		estriol, gamma-tocopherol daidzein, genistein, coumesterol	
Phytosterols		stigmasterol, beta-sitosterol, campesterol, campesterol, cholesterol	
Phenolic Compounds	cyanidin, delphinidin		
antho cyanins (1st grp)	pelargonidin		
gallagy-type tannins	gallic acid		gallic acid, tert-gallic acid
ellagy-type tannins	ellagic acid, corilagin	punicalin, punicalagin	ellagic acid, ellagic tannins
others			galloyl glucose
Others		pectin fibres	protocatechuic acid, catechins, caffeic acid ferulic acid, chlorogenic acid <i>p</i> -coumaric acid, <i>o</i> -coumaric acid phloridzin, quercetin, quinnic acid cyanaroside, pectin
Organic acid			quinic acid, acetic acid, ascorbic acid, aspartic acid, citric acid, Fumaric acid, glutamic acid, l-malic acid, oxalic acid succinic acid, tartaric acid
Fatty acid		oleic acid, palmitic acid, stearic acid, linoleic acid, punicic acid, α -calendic acid α -eleosteric acid	
Organic sugars		sugars	glucose, fructose, sucrose
Minerals		Cu, Fe, Zn, Mg, P, Na, Ca, K	Cu, Fe, Zn, Mg, P, Na, Ca, K

로이드의 섭취에 기인된 것으로 생각된다. 쿠바 전통의학에서 쓰는 항바이러스 제제의 양으로는 석류가 무독하나 hydroalcohol 추출액으로 병아리 수정란에 처리시 0.1 mg/embryo에서는 무독하나 마우스에서는 LD50가 731 mg/kg으로 나타나며 confidence limit가 565~945 mg/kg이다. *in vivo*에서 전과일 추출물을 과량 투여시 creatinine이 증가되며 내부 장기가 충혈된다[97].

항산화 활성

석류 과일의 총 항산화 성분은 녹차의 4배, 포도의 10배 석류 품종 Assaria 및 Wonderful 주스에는 anthocyanidin으로 항산화성분인 delphinidine-3-glucoside, delphinidine-3,5-diglucoside, cyanidine-3-glucoside, cyanidine-3,5-diglucoside, pelargonidine-3-glucoside, pelargonidine-3,5-diglucoside 등이 검출되었다[62, 88].

가식부분이 함유된 종자를 진공냉동 건조 후 분말의 메탄올 가용성 획분, 또는 종자유에 DMSO 희석액으로 SOD-equivalent(units/mg)를 산출하였던 바, 신선한 석류즙액의

anthocyanidin 활성이 2 mM 농도의 delphinidine에 상응하였다(최대 파장 520 nm). IC₅₀값은 pelargonidin 15 μ g/ml, cyanidine 7.6 μ g/ml, delphinidine 1.3 μ g/ml 등으로 산출되었다[88]. 이 때 석류 항산화제의 총량(Table 3)은 11.33으로 녹차의 4배, 포도의 10배 정도이다[27].

Table 3. Total contents of antioxidants in various plants.

Strains	Contents ¹
pomegranate	11.33
grape	1.45
orange	1.14
ginger	3.76
carrot	1.98
chile pepper	2.46
red cabbage	1.88
barley	1.09
strawberry	6.88
dog rose	39.46
raisin	5.07
peanut	1.08

¹Arbitrary unit

석류 항산화 성분의 생리활성

석류의 항산화 활성은 다른 종류의 과일 주스나 추출물에 비해 *in vitro*에서 더 강하게 나타나며[99], 발암의 요인인 염증이나 신생혈관형성반응에 비특이적인 대사의 방어적 역할을 함으로써 유도되는 산화적 긴장을 막아준다[49]. 석류 과피는 설사에서 수렴제로 쓰인다. 건조과피나 주스를 처방시 복통, 대장염, 월경과다, 요충증, 마비, 곤창자탈출증, 이하선염 두통 등의 완화제로 민간의학에서 써 왔다. 또 구충제, 촌충구충제, 수렴제, 항경련제, 항발작제, 이뇨제, 구풍제, 발한제, 유분비억제제, 월경억제제 등의 진단에도 사용되었다. 특히 과피는 남녀 생식기 감염, 유선염, 여드름모양털집염, 치질, 알레르기성 피부염, 고실염, 구강위생제등으로도 사용되었는데 이러한 약효들은 석류의 항산화체에 기인된 것으로 생각된다[74].

특히 *in vivo*에서 신생쥐의 저산소증 또는 알츠하이머 발병시 석류의 폴리페놀 치료로 caspase3 활성화가 억제되어 두뇌(hippocampus에서 84%, 대뇌피질에서 64%)가 보호되며[57], 형질전환된 마우스[APP(sw)/Tg2576]에 석류 주스 처리시 hippocampus에 가용성 Abeta42 및 amyloid 축적이 50%정도 줄어들어 알츠하이머 질환에의 치료 가능성이 제시되었다[29]. 또 70% 메탄올 추출액에 의한 쥐 위장 장애를 에탄올이나 아스피린의 독성으로부터 보호한다. 이때 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione (GSH) 및 glutathione peroxidase (GPx) 활성은 증가되었으나 조직 지방과산화레벨은 감소한다[7]. 수컷 토끼의 발기조직 기능장애에서 오렌지주스, 녹차, 적포도주, blueberry 주스, cranberry 주스 등과 비교시 free radical scavenging capacity가 가장 높은 석류즙의 장기투여가 더욱 효과적이며, 평활근 기능장애 및 섬유증 예방에도 효과적이다[12]. 또 Ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA) 유도성 간독성 출현시 석류 섭취를 통하여 간지방의 과산화를 온화하게 유도함으로써 제거할 수 있다. 간지방 과산화의 60% 보호 효과는 물론 항산화효소 카탈라제(CAT), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), glutathione-S-transferase (GST) 활성을 각각 36%, 28.5%, 28.7%, 40.2%, 42.5% 증가시킨다. Aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), 혈청의 bilirubin 및 albumin 등의 변화가 억제되기 때문에 Fe-NTA 유도성 간 상해로부터 보호된다. 또 Fe-NTA 유도성 hepatic ballooning degeneration, 지방산의 변화, 폐사 등의 조직 병리학적 상해도 완화한다[41]. 석류 주스의 처방시 심혈관질환과 연관된 redox-linked 생화학 경로의 관여 여부는 명확하지 않으나, hyperlipidemic 환자에서 심장질환 위험인자를 변화시켜 저밀도지방이나 총 콜레스테롤 양이 낮아지며[21], 수축기 혈압의 완화, 경동맥 협착의 완화 효과가 인정된다[11]. 그러나 항산화 효과를 부정한 데이터도 있다. 즉 5주간 동안 석류주스를 만성 폐색성 폐질환환자에 부가 처방한 바,

기존의 표준 처방에 비해 항산화의 부가 효과가 나타나지 않았는데, 이는 장내세균군들에 의해 폴리 페놀군들이 대사에 영향을 미쳤기 때문으로 해석된다[16].

Phytoestrogen 활성

게놈성(ER α) 및 비게놈성(ER β) 에스트로겐 수용체의 친화성

1996년까지 에스트로겐 수용체[estrogen receptor (ER)]는 핵내 유전자로써 그 효과를 나타내는 ER α (genomically) 하나만이 알려져 있었으나 그 후 세포막에 존재하는 ER β (non-genomically)가 알려져 세포의 유전자와는 독립적으로 작용하는 것으로 보고되었다[8]. ER은 ER α 와 ER β 유전자에 의해 코딩된다. ER β 는 전립선과 난소, 중추신경, 심혈관계 그리고 면역계, 요도(비뇨생식기관), 뼈, 신장, 폐 등에서 그 발현이 우세하며 태아의 중추신경계에서 발현되나 ER α 가 발현되는 것으로 보이는 고환이나 자궁, 유선에서도 약하게 발현된다[20]. 이들 수용체는 여섯 개의 도메인, A-F로 나누어지는데 두 수용체는 DNA 결합 도메인(C)에서 96%의 상동성을 나타내고 리간드의 결합 도메인(E)에서는 58%의 상동성을 나타낸다[64]. 그러나 hinge 영역과 F-domain은 보존되어 있지 않다. 이들 양쪽 모두 estrogen response element (ERE)의 보존된 영역에 결합하며 유사한 리간드 결합성이 나타난다. 이들은 N-말단은 유사하지 않으나 ER α 와 같이 ER β 는 활성 도메인은 유사하여 활성기능1(AF1)이 mitogen-activated protein kinase (MAPK) 경로에 감수성이다. 부가적으로 이들 양 수용체는 두 번째의 활성 도메인, 활성기능2(AF2)를 갖고 있어서 coactivator SRC-1에 의해 증폭된다. 따라서 각 세포에서 ER α 와 ER β 의 상대적인 활성에는 차이가 있지만 이들의 리간드 결합능, DNA 결합능, transactivation 성질은 서로 간에 오히려 유사하다[18].

ER α 및 ER β 는 17 β -estradiol에 대하여 높은 친화력이 있어서, 그 결합이 정상 혹은 악성유방암에서 나타난다[69]. 석류의 luteolin, quercetin 등과 같이 ER β 에 특이적 친화성을 가진 "리간드(compounds)"는 유방암에 대한 예방적 효과를 나타내는 것으로 간주되어[36] 혈압이나 혈관보전, 뇌 발달, 노화, 특히 폐경기 후의 여성 등에 대하여 강한 활성이 인정되고 있다[20, 86, 103]. 본 연구에서도 linoleic acid, α -linolenic acid 등은 ER β 에 대한 결합능이 더 강함을 알 수 있었으며 punicic acid, α -eleostearic acid는 ER α 에 대한 친화성이 더 강함을 알 수 있었다[88, 92, 93].

석류 phytoestrogen의 유방암 저해 효과

ER은 리간드(ligand)에 의해 활성화되는 전사인자로서 이들 수용체에 대한 1차적인 내인성 리간드는 17 β -estradiol이다. 이 17 β -estradiol은 난소에서 분비되거나 전구체(예, testosterone) 호르몬의 말초조직에서의 대사에 의해 생성된

다. 이 ER은 합성 작용자 또는 길항자(또는 항작용자)와 결합이 가능한데 그 가운데 하나가 phytoestrogen이다. 최근 이들과의 결합양상의 3차원 구조가 제시되었으며[59], 또 천연 혹은 합성 에스트로젠 74종의 사람 ER α 및 ER β 에 대한 결합친화력을 양적으로 비교한 결과도 보고되었다[102].

석류에는 에스트로젠성 flavonoid인 kaemperol, naringenin, quercetin, 및 luteolin등이 함유되어 있어서 ER에 17 β -estradiol과 경쟁적으로 결합한다. 이러한 경쟁현상에 덧붙여 *in vitro*에서 사람의 유방암세포의 성장을 직접적으로 저해한다. 즉, ER⁺ 유방암 세포주(MCF-7)는 ER⁻ 세포주(MDA-MB-231)보다 항이스트로겐의 효과가 더 크게 나타나며, 정상 세포주(MCF-10A)에서는 최소한의 영향만이 나타난다. *ex-vivo* 모델에서 마우스 유선을 화학적 발암물질에 노출시켰을 때 전암의 종양 형성 증상을 저해된다[45]. 석류주스의 메탄올 가용성 성분은 MCF-7에서 17 β -estradiol과 경쟁적으로 ER⁺에 결합하여 자극함으로써 난소적출 마우스에서 자궁의 무게를 증가시킨다[60]. 더욱이 석류 주스 또는 종자 추출물은 난소적출 마우스에서 골밀도 증가나 실험적 우울증의 감퇴효과로 에스트로젠 작용성 보호효과(estrogen-agonist protective effect)가 인정된다[63]. 또 석류 종자유는 경구적 또는 근육주사로 난소적출 마우스 또는 미성숙 토끼에 투여시 자궁의 무게 증가나 질의 각질화도 촉진된다[83]. *In vitro*에서 발암제 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)로 처리한 마우스 포유조직 배양에서 석류발효주스의 HPLC 분획 peak B을 사용하여, 유방암세포 저해 효과를 검토한 바 대조구에 비해 상흔 부위가 42%나 감소하며, 이 때 정제된 peak B 또는 종자유를 처리할 경우는 87%가 감소한다[61].

에스트로젠 작용성은 항염증 작용이나[28], Fas/FasL 경로를 통한 apoptosis를 증강시킴으로써[87] 암의 치료 가능성이 상승되거나 항암 활성의 타겟 물질은 아직 명확하지 않다.

순비기에서 ER 결합 활성의 타겟 성분은 linoleic acid

석류에서 항에스트로겐의 타겟 물질로써 linolenic acid 유사체들이 본 연구에서 처음 확인된 즙 *Vitex agnus-castus* (chaste-berry, 순비기)에서 linoleic acid가 에스트로젠 유도성 물질로 보고되었다. 순비기(준목형, 해안가 덩굴로 서식)는 그 열매가 초경 또는 폐경기 증세에 대한 이완제로써 서양 민간약으로 사용되어 왔다. 임상 및 실험연구결과 건조 순비기 추출물은 프로락틴의 증가량과 밀접한 관계에 있는 premenstrual syndrome (PMS), 비정상적인 월경주기, 유방 통증, 고프로락틴혈증(hyperprolactinemia)등의 치료에 효과적이었다. 순비기 추출물의 메탄올 가용성분은 Ishikawa 자궁내막 암세포에서 ER α 또는 β 에 결합하여서 progesterone receptor (PR) mRNA나 S30 유방암세포의 pS2 (presenelin-2) mRNA를 up-regulation하였다. 순비기의 잎과 꽃에서 iridoids,, flavonoids,, essential oils, 지방산, diter-

penoids 등과, progesterone, hydroxyprogesterone, testosterone 및 androstenedione 등이 극미량 함유되어 있으나 ER 결합 활성의 타겟 물질은 linoleic acid이며 이는 PR α 및 β 유전자에 대한 mRNA의 up-regulation에서도 확인된다[53].

어떤 지방산은 여러 가지 수용체에 비경쟁적 또는 경쟁적으로 소수성 상호작용에 의해 결합된다. Arachidonic acid, palmitic acid, stearic acid, oleic acid, docosahexaenoic acid 등은 내인성 스테로이드 결합부위가 아닌 부위에서 estrogen, progesterone, androgen, 및 glucocorticoid 수용체에 결합한다. Linoleic acid는 opioid(아편 유사제) 수용체 또는 누클레오시드 수송단백에 결합하며 ER에 estradiol 대신에 경쟁적으로 결합함이 확인되었다. 본 연구의 결과 검증된 20여종의 지방산 가운데 13종은 ER α 에 6종은 ER β 에 결합하는데 16탄소 이하의 지방산은 수용체에 결합능이 없으며 포화지방산은 수용체에 대한 선택성이 불포화지방산에 비해 명확히 나타나지 않았다. 이들 지방산은 ER에 estradiol과 경쟁적으로 결합하였다[88].

석류에서 ER 결합 활성 성분의 탐색

본 연구에서 linolenic acids analogues에 대한 *in vitro* ER 결합 활성 검증에서 estradiol의 1/100정도의 결합능이 있었으며 ER⁺ 및 ER⁻ 세포주에서도 세포 증식, 세포 독성에의 효과성에서 에스트로젠 대응성분으로써의 기능이 확인되었다. 이 실험결과는 linoleic acid가 *Vitex agnus-castus* L. (chaste-berry)의 과일성분으로 T47D:A18 세포에서 ER β 수용체에 결합력이 강하여 ER β mRNA의 발현만을 선택적으로 촉진하였으며, Ishikawa 세포에서는 PR의 활성은 증폭시켰으나 alkaline phosphatase (AP) 활성은 그렇지 않음을 감안할 때[54] 석류에서 검출된 linoleic acid, α -linolenic acid, 특히 새로이 그 함유성이 발견된 α -eleostearic acid [92], 함량이 65% 정도인 puniceic acid[93] 등의 conjugated linolenic acids (CLA)가 항에스트로젠 기능 활성의 타겟 성분일 것으로 예측되었다. 즉 이들 CLA는 ER 수용체 결합의 주도적 기능을 가진 selective estrogen receptor modulator (SERM) 활성성분의 본체이며 그 활성은 puniceic acid (9Z,11E,13Z)에 주로 기인될 것으로 추정되었다. 미량으로 α -eleostearic (9Z,11E,13E)도 석류에서 검출되었으나 calendic (8E,10E, 12Z), jacaric (8Z,10E,12Z), 및 catalpic (9E,11E,13Z) acid는 검출되지 않았다[92, 93]. 특히 α -eleostearic acid는 사람 결장암세포의 강력한 증식억제, 지방 과산화로 인한 DNA 단편화, apoptosis의 유도효과 및 caspase mRNA의 증폭 발현 등의 효과가 보고되어 있으며 그 활성의 효과는 기타의 conjugated linoleic acid 보다 훨씬 더 강하다[96, 100]. 또 c9, t11-conjugated linoleic acid도 MCF-7 세포주에 처리시 세포증식이 저해되며 이때 p53 발현이 감소하여 apoptosis가 유도된다[54]. 석류에는 linoleic acid, α -linolenic acid도 검출되었으나 8E, 10E-octadecadienoic acid 및 11E,

13E-octadecadienoic acid 등의 conjugated linoleic acids는 검출되지 않았다[93].

석류의 비이소플라본성 항에스트로겐은 이소플라본성 대두나 클로버를 능가

Genistein은 콩과식물의 대두와 클로버에 고함량 존재하며 hormone replacement therapy (HRT)에 응용되는데 에스트로겐 길항성을 나타내며 저농도 투여에서는 유방암세포의 증식이 촉진될 수도 있다[15]. 그러나 석류의 비flavonoid성의 quercetin은 낮은 투여량에서는 유방암세포의 증식을 자극하지 않으며 석류 분획 혹은 종자유는 복합 유방암의 억제나 질 상피의 각질화, 자궁무게의 증가 억제효과가 있음이 입증된다[83].

또 genistein은 비선택적이어서 ER α 와 β 에 동일하게 작용하나 유방암 위험성은 ER α 의 자극과 관련되어 있고, 심장, 뇌, 뼈 등의 보호는 ER β 의 자극에 기인되는 것으로 볼 때 석류는 이들 양자를 만족시킬 수 있는 유일한 천연물인 셈이다. 결국, ER β 의 선택적 자극은 노화를 늦춘다는 관점에서[86] 중요한 의미가 있다. 대두, 붉은토끼풀, 감초 성분은 모두 강력한 phytoestrogen으로 ER α 와 β 에 거의 동일하게 자극하나, black cohosh와 석류는 훨씬 더 강한 ER β 선택성이 있다. Black cohosh는 가장 오래된 식물성 대체 HPT로써 이로부터 제조된 remifemin은 독일에서 50년 이상 팔렸으며 최근에는 Glaxo Smith Kline (www.remifemin.com)에 의해 미국시장에도 진출해 있다. Black cohosh의 HRT로서의 위험성과 유방암의 상대성을 감안할 때 석류의 phytoestrogen은 식용작물유래이나 black cohosh는 약용이란 차이가 있다. 특히 black cohosh는 독성이 석류보다 강하여 서맥, 터질듯한 두통, 안면 홍조, 어지럼증 등이 야기될 수 있다는 점이다(www.solgar.com, www.twinlab.com, www.novogen.com).

항암 활성

석류의 냉압착 종자유 또는 발효주스 성분은 암의 발생율을 86%나 저하

사람에서 에스트로겐은 유방, 자궁내막, 폐, 또는 전립선 등의 발암에 위험인자가 될 수 있다. 특히 폐경기 여성에서는 유방암의 다 빈도 출현과 고농도의 내인성 에스트로겐의 연관성을 감안할 때, 항에스트로겐 요법은 절실히 요구된다. 경구 피임제의 지속적 투여에 의해 45세 이하의 여성에서 자궁과 유방암의 위험성이 높아지며, 외인성 에스트로겐 단독 혹은 프로게스테틴과의 복합 처방으로 유방암의 위험성은 더욱 증폭될 수 있다. 경구피임제를 10년간 복용시 비복용자에 비해 유방암의 위험성이 매년 1.36%씩 증가함을 볼 때 phytoestrogen에 의한 대체요법은 폐경기 여성에서 절실히 요구된다. 마우스의 포유조직 배양세포를 화학 발암제

DMBA에 노출시켰을 때 생성되는 전암의 개시과정이 석류 발효주스에 의해 46%나 저하되었다[45]. 또 석류의 냉압착 종자유 또는 발효주스 성분은 암의 발생율을 86%나 저하시키며, 이 경우 1 μ g/ml 투여시 그 억제효과가 10 μ g/ml 투여시 보다 더 강하게 나타나 적정량을 투여시 효율이 더 강하다[61]. 또 발암제 azomethane(AOM)을 처리한 쥐의 결장암 발생이나 증폭이 종자유에 의해 감소[46]된다든가 DMBA로 피부암을 유도한 암컷 CD-1 마우스에서 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA)로 증폭시킨 암조직에 5%의 석류 종자유를 투여시에도 암세포의 증식이 현저히 감소한다($p < 0.05$)[31]. 이 때 만약 발효주스나 꽃 추출물(2mg/mouse)을 TPA 처리이전에 투여하면 9~14주 정도 잠복기간이 지연되면서 암 발생율이 30~100% 정도 감소한다[5].

유방암 발암 위험인자로서 에스트로겐의 작용성

내인성 에스트로겐은 빠른 초경, 늦은 폐경, 폐경 후의 비만도 등과 연관되어 유방암을 발생하는 것으로 유추되고 있다. 아주 약한 연관성이기는 하지만 초경이 12살에 시작되는 경우 14살에 비해 그 발암의 위험도가 1.2배나 높다. 빠른 초경의 경우 유방 내막세포의 증식율이 높다는 것, 늦은 폐경의 경우 보다 연장된 배란 주기가 정기적인 주기에 비해 내인성 에스트로겐에 더 많이 노출되기 때문에 유방세포의 증식율이 증가되어 암 발생율이 높아지는 것으로 해석된다. 비만의 경우는 상대적으로 지방조직에서 안드로겐이 에스트로겐으로 전환되면서 순환 에스트로겐의 농도가 보다 높아지기 때문에 유방암의 위험도가 그만큼 더 증가되는 셈이다. 비만만성 또는 늦은 초산도 유방암의 위험도를 가중시키는데 20세 이전 출산 시 30세 출산에 비해 그 위험도가 50%정도 떨어지며, 어린 나이에의 잇따른 출산은 그 위험도를 더욱 낮출 수 있다. 수유는 배란 주기의 재정립을 지연시키기 때문에 발암의 위험성을 상대적으로 낮춘다. 임신기간 동안 사용하는 디에틸stil베스트롤(합성에스트로겐)이나 이란성 쌍둥이를 임신한 경우는 유산의 위험도는 낮추게 되나, 순환 에스트로겐이 다량 있기 때문에 암발생 위험도가 상대적으로 증가한다[89]. 결국, 타겟 기관의 에스트로겐에의 노출은 발암율과 연관성이 있음을 시사한다. 사람에서 타겟 조직에서의 발암기구가 아직은 명확히 입증되지 않았으며 또한 동물 모델에서 발견된 결과들이 사람에서 어느 정도 동일하게 진행될런지의 여부도 명확하지 않다. *in vitro* 실험결과 및 가지 발암유전자/암 억제 유전자나 사람 암세포주에서의 신호경로가 에스트로겐에 의해 조절되므로 세포증식, 유전적 에러, 혹은 형질전환 등이 발암과 연관되어 있을 것으로 추정된다.

여러 가지 유전적인 에러도 에스트로겐 발암을 유도할 수 있는데 악성 표현형의 진전에 의한 체세포 변이나 예측 불가의 세포증식은 유전독소나 에스트로겐에의 노출에 의해 야기되는 epigenetic errors에 의해 증폭될 수 있다. 사람은

개체간에 계놈의 99.1%가 동질성을 갖고 있으나 유전적 요인을 중요시하지 않을 수도 있다. 쌍생아에서 한쪽이 유방암에 걸렸다고 할 때 나머지 한쪽이 걸릴 확률은 20%이다. 만성질환의 75-85%가 생활습관에 의존하며 유전자에 의존하지 않는다는 보고도 있다[6]. 또 지방과 붉은 육류를 많이 섭취하는 경우가 식이 섬유, 과일, 야채 등을 섭취하는 경우보다 결장샘종이 다빈도로 발현된다는 보고도 있는가하면 206명의 사람과 22건의 동물 연구에서 여러 가지 암의 발생율이 그 반대로 나타난 경우도 있다[6]. 특히 에스트로젠 유도성 발암은 항 에스트로젠에 의해 차단되기 때문에 genotoxic과 epigenetic events는 에스트로젠 수용체에 의해 매개될 수 있다. 발암에서 17 β -estradiol (E2)의 역할은 1940년대 초 기니아 포그 및 마우스에서 그 역할이 처음 보고된 후, *in vitro* 및 *in vivo*에서 에스트로젠의 발암과 연관되어 많이 보고되었다. 1997년 Tsutsui와 Barret[94]는 Syrian hamster embryo (SHE) 섬유아세포를 에스트로젠에 급성 노출시켰을 때 직접적으로 형질전환시킬 수 있었다. 또 발암성에 대한 파라메타이기도 한 SHE 세포에서 유전적 독성에 의한 상흔이나 DNA 내전(adducts)이 E2나 에스트론에 의해 형성되므로 형질전환 물질로 간주하였다. *in vivo* 실험에서도 외인 에스트로젠의 투여가 마우스에서 유방, 자궁, 질, 경부, 고환, 뇌하수체, 림프, 및 골수암을, 쥐 및 몰랫트에서 유방암 및 뇌하수체암을, 햄스터에서 직장암을 유발할 수 있음이 확인되었다. ER이 유전적으로 결손되었다든가 에스트로젠에 만성적으로 노출되었을 때 야기되는 후성적 변이로 타겟 기관에서의 DNA 메틸화가 일어나며, 염색체 분절이나 이수체(aneuploidy)에서의 DNA 내전 및 염색체 이상(aberrations)이 야기될 수도 있다[59].

사람 전립선암세포의 증식억제 효과

에스트로젠 작용성은 전립선암에서 안드로젠 활성을 저해함으로써 확인되었다[104]. 또한 사람 전립선암세포 이식 절편의 증식(*in vivo*), 세포주기, apoptosis, 유전자 발현, 침윤(*in vitro*) 등에서 냉각유/supercritical CO₂ 종자유, 석류 발효주스, 과피 추출물 등의 저해 효과를 검토하였다. 안드로젠 감수성(LNCaP)세포, 비의존성(PC-3)세포, 정상 전립선상피세포(hPrEC)가운데 LNCaP에서의 과피 추출물에 의한 50% 증식저해율(ED₅₀)은 70 μ g/ml이나 hPrEC에서는 250 g/ml이다. 이러한 억제력은 세포 주거나 caspase3-의존 apoptosis에 기인되어 야기된다. 안드로젠 비의존성 DU-145 세포주에서도 억제현상이 일어났는데 그 활성이 냉각유/supercritical CO₂ 종자유(35 μ g/ml)의 성분보다 발효주스나 과피 추출물 성분이 더 강하게 저해한다. 이때의 저해 효과는 LNCaP 및 PC-3에서는 다소 약하다. 특히 hPrEC에서는 LNCaP에 비해 발효주스나 과피 추출물에 의한 저해능이 현저히 약하다(ED₅₀=250 g/ml)[9]. 냉각유/supercritical CO₂ 종자유, 발효주스 및 과피 추출물의 폴리페놀 성분은 DU-

145의 G2/M기($p < 0.05$)에서는 세포 주기의 변화 및 apoptosis를 야기시키나(11~22%) 종자유가 없이 과피 추출물이나 발효주스만으로 처리시에는 G1기에서 세포의 증식이 오히려 저하된다[9].

석류 acetone 추출물은 안드로젠 비의존성 PC-3 세포에 처리할 경우 사용량에 비례하여 세포증식이 저해되는데, 이는 cyclin kinase 저해제-cyclin-cdk 네트워크에서 나타나는 변화와 일치한다. 또한 안드로젠 감수성 사람 전립선암세포(CWR22Rnu1)를 이식한 누드마우스에 석류 아세톤 추출물을 처리한 경우 증식억제는 물론 혈액 전립선-특이항원이 결정적으로 감소된다[58]. 특히 genistein에 의한 추가적인 증식억제효과나 MCF-7세포에서의 발효주스의 부가적 저해효과는 그 선택성에서 더욱 연구가 진전되어야 할 것이다[37].

냉압착 종자유, 발효주스, 또는 과피추출물의 선택적, 복합적 저해 효과

HT-29 사람 결장암세포에서 punicalagin이 1.74 g/L 함유된 총 탄닌 추출물[total pomegranate tannin (TPT)], 또는 주스는 순수 punicalagin만으로 처리한 경우에 비해 세포 증식과 회합되어 있는 TNF- α 유도성 COX-2 발현을 더 강하게 저해하며, 그 중 주스는 TPT보다 훨씬 더 강력하게 저해한다. 비록 punicalagin의 양이 주스에서는 punicalagin 정제품 또는 TPT와 혼합한 경우에 비해 훨씬 적었지만(1/300 정도) 저해 활성은 더 강하다. p65 서브유닛의 저하된 인산화 또는 nuclear factor- κ B (NF- κ B) 반응요소와의 결합력이 저하되어 TPT>주스>punicalagin으로 나타나던가, EA는 영향을 미치지 않는다. 또한 EA와 punicalagin은 비활성인데 비해 주스는 TNF α -유도 Akt (protein kinase B) 활성화(NF- κ B 활성화에 요구됨)에 반응하지 않는다. 따라서 주스의 성분은 염증 cytokine 발현이 상승적으로 억제된다. 석류의 총 메탄올 추출물은 염증이 lipopolysaccharide에 의해 야기되는 microglial cell에서 TNF α 의 생성이나 발현을 투여량 의존적으로 저해한다[39]. 석류의 활성 성분을 암세포에 처리시, 석류 성분을 복합적으로 처리한 경우가 단일 성분만으로 처리한 경우보다 그 억제 효과가 훨씬 더 강하다. 예로써 *in vitro*에서 항증식, apoptotic 및 항산화 활성을 갖는 punicalagin, EA, TPT 등과 이들 물질로 표준화한 주스를 비교 처리한 경우 그 활성의 차이를 들 수 있다. 사람의 구강(KB, CAL27), 결장(HT-29, HCT116, SW480, SW620) 또는 전립선(RWPE-1, 22Rv1) 암세포의 증식에 대한 punicalagin, EA, 또는 TPT의 저해 및 항증식 활성은 12.5-100 μ g/ml인데 이는 표준 punicalagin을 단독으로 처리한 경우가 이를 표준화한 석류주스를 처리한 경우보다 활성이 약한 셈이다. 즉 천연 주스를 처리한 경우가 한가지씩의 정제 성분을 처리한 경우보다 apoptotic 효과가 상승된다든가 더 강한 항암효과를 나타낼 수 있다[80]. 주스는 모든 세포주에서 30% 내지 100%의 항증식효과를 나타내며 주스, EA,

punicagin 및 TPT는 100 µg/ml에서 HT-29 결장암세포의 apoptosis를 유발한다. 그 항산화 활성의 강도는 주스 >TPT>punicagin>EA 순이다. 이때 정제된 폴리페놀류에 비하여 주스의 활성이 우수함은 단일 활성성분에 비해 복합 성분에 의한 다인자 효과 또는 화학 시너지 효과로 간주된다. 또 과피 추출물(6.25 µg/ml) 또는 종자유(16.25 µg/ml)의 유사치사량과 석류 발효주스의 항증식량(25 µg/ml)을 합산한 양을 투여 하면 증식억제 효과가 현저히 증가한다 ($P<0.001$)[50].

퓨니식산과 폴리페놀은 prostagrandin 생합성을 저해한다. soybean lipoxigenase (LOX)는 석류 종자유 페놀풍부 추출물 및 발효주스의 에틸초산 추출물에 의해 저해되나 sheep cyclooxygenase (COX)는 종자유 페놀풍부 추출물 및 석류 전추출액에 의해서도 저해된다[78]. *in vitro*에서 석류발효주스, 과일추출물, 종자유 등을 처리할 경우 인간의 PC-3 안드로겐 negative 전립선 암세포의 phospholipase A2 발현이나 Matrigel™에서의 침윤이 약 60% 저해된다[9]. 이 경우에도 두 가지 이상씩을 동시에 처리하거나 (동량씩 도합 3 µg/ml 처방시 침윤이 약 90% 억제) 세 가지를 동시에 처리할 경우[각 1 µg/ml씩 동량 처방시에는 억제효과가 99%($p<0.01$)이상] 효소들의 활성저해능이 더욱 강하게 나타난다[50]. 또 냉압착 종자유는 *in vitro*에서 에스트로겐 감수성 MCF-7 유방암세포의 침윤을 막아주며[93], 순수 punicic acid 1 µg/ml은 PC-3 침윤을 70%나 저해시킨다. Luteolin은 60%, EA는 60%, caffeic acid는 50%의 침윤 저해 효과가 나타난다. 어느 두 가지를 합칠 경우 크게 상승효과는 나타나지 않지만 punicic acid, luteolin 및 caffeic acid를 함께 섞어 처방시에는 95%의 상승적인 억제효과가 나타난다. 여기에 EA를 부가할 경우는 그 상승효과가 오히려 떨어진다[48].

항암 활성의 타겟 성분 및 기작

식품 또는 천연물에 의한 항암활성은 protein kinases, 항 apoptosis 및 apoptosis 단백, 성장인자, 전사인자, 세포주기 단백질, 세포부착분자, 전이, 기타 등과 연관하여 약 70여종의 타겟인자, 단백질, 성분, 효소 등을 up- 또는 down-regulation 함으로써 일어나는 것으로 설명된다. 석류에 다량 함유된 EA는 전이과정에서 COX2, MMP9, vascular endothelial growth factor (VEGF) 등을 down regulation하며, 전사인자으로써 NF-κB, p53을 down regulation 한다. 그 외 성장인자으로써 platelet-derived growth factor (PDGF), 세포주기단백으로써 cyclin D1을 down-, p21/WAF를 up-regulation하는 기작에 의해 항암효과를 나타내는 것으로 알려져 있다[6]. 가장 많이 연구된 것은 French paradox의 본체인 trans-resveratrol으로써 activator protein-1 (AP-1) 저해 및 그 kinase의 활성화, NF-κB-DNA 결합능 및 p65 전좌의 저해,

세포주기 저해 등을 들 수 있다[6].

세포주기의 저해에 의한 항암활성

세포주기는 조절기능이 상실되면 암으로 전환되는 결정적인 계기가 된다. 사이클린(cyclins) D1, E와 cyclin-의존성 kinase (cdk) 1, 2, 4, 6, 7의 변화는 그 주된 요인이 된다. 사람의 Burkitt lymphoma나[82] monocytic leukemia 세포를[90] 석류 과피 추출물 또는 종자유에 노출시키면 세포주기가 변화된다. 이는 세포주기관련인자 WAF1/p21의 up-regulation에 의한 신호전달 분자의 수식에 기인되나 유사한 결과가 주스의 수용액 희분에서도[84] 나타나며 이는 마우스 암 또는 사람 monocytic leukemia에서 conjugated linolenic acid의 과산화에 의하여[95], 또는 lipoxigenase 저해[19]에 의하여 야기된다. 즉 사람의 정상 상피세포(HMEC) 또는 MCF-7 유방암세포에서 linoleic acid는 lipid peroxide 형성을 증가시켜 세포증식을 촉진하나 conjugated linolenic acid는 저해한다. 그러나 HMEC 또는 MCF-7에 linoleic acid와 COX 저해제 indomethacin (INDO) 또는 LOX 저해제 nordihydroguaiaretic acid (NDGA)를 가한 경우는 생육이 저해되나 conjugated linolenic acid와 이들 저해제들을 가한 경우는 생육 자극효과가 있다. 이 때 HMEC에 conjugated linolenic acid, INDO, NDGA를 가한 경우와 MCF-7에 conjugated linolenic acid, INDO만을 가한 경우는 세포 증식이 자극되나 MCF-7에 conjugated linolenic acid, NDGA만을 가한 경우는 증식저해가 상승적으로 일어남을 볼 때 conjugated linolenic acid의 효과는 lipoxigenase 저해에 기인되는 것으로 해석된다.

석류의 flavonoid가 풍부한 폴리페놀 분획은 유방 및 전립선암에서 항증식, 항침투, 항-eicosanoid, 항-apoptotic 활성을, 또한 *in vivo* 및 *in vitro*에서 항-신생혈관형성반응을 나타낸다. 과피 추출물과 석류 발효주스의 경우 nitro blue tetrazolium (NBT) 환원 활성, non-specific 및 specific esterase 활성과 식세포작용 등으로 분화능을 측정할 바, HL-60 전골수세포성 (promyelocytic) 세포의 분화가 촉진되었다. 그러나 석류 주스의 에틸 초산 추출액은 그 증식 효과가 감소되었고 추출물의 양에 비례하여 활성이 나타난다. 그러나 유방, 전립선과 같이 타겟 세포주가 달라지면 석류 추출물은 항암 효과를 나타내는데 이는 분화의 억제에 기인되었기 때문으로 간주된다[42].

항염증 활성을 가진 석류

염증은 병원균으로부터 선천성 면역 기관을 보호하고 면역 기능을 개시하는 절대적인 기능이다. 빠르게 또 자기-제한적으로 일어나는 급성 염증은 조직 손상에 대한 유익한 숙주반응이기는 하나, 시간적으로 분해력이 지연될 경우 면역관련성 질병인 류마티스성 관절염이나 inflammatory bowel disease (IBD)관련 암으로도 진전될 수 있다[14, 85]. 실리

카나 아세베스트는 폐암, 주혈 흡충증(schistosomiasis) 및 방광암, IBD, 결장암, 전립선염, 전립선암 등을 직접적으로 유발하거나 간접적으로 환경기질 속에서 염증세포를 통하여 유발될 수 있다. 만성적인 염증은 가용성 전 염증 매개체 TNF- α , 인터루킨(IL-6 및 IL-8), 전사활성인자(NF- κ B), 또는 eicosanoids (prostaglandin E2 및 LOX 유도체)와 같은 생리적활성 지질 등과 연관되어 암을 유발할 수 있는 조기의 변화가 야기될 수 있다[79]. 이와 같이 석류는 암으로의 전환기구를 명확히 하며 그 예방 및 치료에 복잡한 염증과 연관된 활성이 있다.

재래적인 비스테로이드성 항염증제로 COX를 저해할 경우 심혈관 기능이 오히려 더 나쁘게 된다거나[25], 심혈관 항상성에 필수적인 혈소판 응고 저해, 혈관확장 유도, 상피 세포부착 분자의 발현 등의 down-regulation이 prostanoid인 PGI₂ (prostacyclin)를 억제함으로써 야기된다[67]. 그러나 석류 주스에서는 그 반대현상이 나타나기도 한다. 오렌지 주스나 적포도 주스 또는 커피에 비하여 석류 주스는 사람의 경우 20분 만에 또는 소비 후 6시간 만에 PGI₂를 아주 강하게 발현시킨다. 비록 포도 주스가 보다 강력하게 음료 2시간 후, PGI₂ 발현을 증가시키나 석류 주스도 *in vitro* 실험에서 사람 대동맥 내피세포[human aorta endothelial cells (HAEC)]의 PGI₂ 합성을 증가시킨다[67].

세포의 6-keto-prostaglandin F_{1 α} platelet 기능이 강한 항산화 작용에 의해 변화되는데[73], 이는 석류의 발효주스나 종자유가 COX나 LOX 등의 염증 유전자의 발현을 저해하기 때문이다[78]. 또 metalloproteinase 활성의 선택적 저해, vascular endothelial growth factor (VEGF) 발현의 감소, focal adhesion kinase 활성의 감소 등에 의해서도 암세포의 침윤이나 전이가 일어나는데 이는 p-glycoprotein의 발현과 연관되는 석류의 catechins 성분 때문이다[49].

Protein kinases의 저해에 의한 항암 활성

UV-B선과 같은 유해 인자는 DNA 가닥을 끊음으로서 histone H2AX와 같은 단백질의 인산화과정을 변화시켜 세포주기의 변화나 apoptosis를 야기시킨다[26]. 그러한 단백질은 염증 전단계의 사이토카인(생물학적 응답 수식자)을 들 수 있는데, 이러한 단백질이 수식되면 염증의 연쇄적 반응(inflammatory cascade)이 일어난다. 따라서 이러한 연쇄반응의 원리나 과정을 규명하면 만성적인 염증 즉, 암과 같은 만성질환에 대처할 수 있다. 예로써 UV-B를 과잉 조사 시 erythema, hyperplasia, hyperpigmentation, 면역억제, 광노화, 피부암 등이 나타나는데 특히 각질세포 또는 분열촉진 물질 활성화 단백 키나제[mitogen activated protein kinase (MAPK)] 경로에서 anthocyanidine 및 수용성 탄닌이 함유된 석류 과일의 아세톤 추출물을 처리하면(10-40 μ g/ml) MAPK, NF- κ B 경로 등에서의 인산화가 저해된다[4]. 석류 과일의 아세톤 추출물에 의한 NF- κ B, MAPK, 또는 전-염증

단계의 생물반응 수식자인 관련 사이토카인의 저해는 *in vivo* 에서 TPA에 노출된 CD-1 마우스의 피부에서도[5] 일어난다. 또 종자유의 처리에 의해 사람 DU-145 전립선 암세포에서 MAPK-APK2의 up-regulation과 함께[9], 사이토카인인 인터루킨IL-1 β 에 의해서도 사람의 연골세포가 유도된다. 치주염을 앓는 환자들에게서 석류 추출물이 사이토카인 활성을 낮춤으로 인한 유의한 효과도 보고되었는데, 15명의 만성 치주염 환자에게 석류 껍질 추출물(*Centella asiatica*추출물 부가)을 주입한 잇몸 내 칩을 6개월간 이식하였던 바, 몇 달 후 염증을 일으키는 사이토카인(IL-1 β 와 IL-6)의 활성이 감소하여 좋은 진단효과가 확인되기도 하였다[76].

Apoptosis, 항apoptosis에 의한 항암활성

세포주기의 억제는 암의 치료를 위한 방안인데 이 경우 대부분 apoptosis가 유도된다. 이는 세포사와 신생 세포의 생성의 평형이 필수적이기 때문이다. 성숙된 동물에서의 apoptosis는 과잉의 결손된 세포를 파괴하는 필연적인 현상이다. Bcl-2, Bcl-XL, cIAP, survivin, 등의 NF- κ B를 조절하는 항apoptosis 유전자들이 down-regulation되면 apoptosis 경로가 일차적으로 차단될 수 있다. 석류의 성분들에 의해 NF- κ B의 저해나 AP-1 (활성단백, activator protein) 활성화가 야기될 경우 세포증식이 억제되고 세포의 apoptosis가 유도되는 것으로 알려져 있다[6]. NF- κ B는 전사인자로서 DNA에서 κ B부위에 결합하는 2량체 단백질이다. 이는 free-radicals에 의해 활성화되거나 염증자극, 사이토카인, 발암제, 암의 촉진인자, 내독소, γ -선 등에 의해 활성화된다[6].

이러한 세포주기의 억제제로써 가장 많이 연구된 천연물은 resveratrol을 들 수 있는데 많은 암세포주에서 그 억제효과가 보고되었다. 석류의 경우에는 주스나 그 주된 내용물 가운데 항 동맥경화 활성을 가진 ellagitannin 즉, punicalagin, EA 등은 resveratrol, ursolic acid (박하의 활성 성분), 녹차 폴리페놀 등과 같은 강력한 항산화성에 의해 이러한 활성이 유도된다. 특히 항암 치료 후의 종양 반응 예측에 유용한 표지로 사용되는 세포 사멸 초기의 apoptosis는, 석류의 EA, quercetin, ellagitannins, luteolin 및 apigenin 등에 의해 일어난다. 이러한 암세포의 apoptosis 작용은 NF- κ B의 미약한 활성화, 지방산이나 암 폐사인자 합성능의 감소, caspase 활성의 증강, p21과 p53 발현의 up-regulation 등에 기인된다. 석류의 복합적 성분에 의한 apoptosis의 활성화, 염증의 감소, 전이 및 침윤의 감소, 약제 내성의 감소, 등이 항암효과로 이어진다. 특히 석류껍질 추출물은 인체 Burkitt 림프종 세포주 Raji와 P3HR-1에서 apoptosis를 야기하여 세포 성장을 억제하며[81], 50 μ g/ml의 석류 종자유는 ER⁺ MDA-MB-435세포주에서 δ -tocopherol보다 54% 더 강한 apoptosis 활성을 나타내기도 한다[45, 93].

석류 과피 추출물이나 발효주스는 전이성이 높은 사람 전립선 안드로젠 수용체(AR)⁺ PC-3 암세포주에서 종자유보다

더 강한 apoptosis 활성을 나타내는데, 보다 늦게 성장하는 DU-145 세포주에서는 종자유가 활성이 더 강하다. 이러한 전이 활성은 apoptosis 단백질 caspase에 의해 일부 매개되거나[9], suicidal apoptotic cascades과정에서 염증 반응이 수반되면서 강력한 항암효과가 나타난다[38]. 전과일 아세톤 추출액은 PC-3세포의 apoptosis 단백질 caspase의 활성화를 야기하는데 이는 Bcl-XL과 Bcl-2과 같은 항apoptosis 단백질의 활성억제에 기인된다. 또 이 추출액은 cyclin D1, D2, E와 cyclin-dependent kinase (cdk) 2, cdk4, cdk6의 발현을 억제한다. 한편 주스 또는 TPT를 각각 100 µg씩의 punicalagin과 EA를 동시에 또는 100 µg punicalagin만으로 표준화하였을 때 어느 경우든 HT-29 결장암세포의 apoptosis가 억제된다. 그러나 HCT116 결장암세포에서는 주스를 제외한 TPT, punicalagin 및 EA에 의해서만 apoptosis가 유발된다. 이 때 항산화 활성으로 모든 세포주에 대하여 가장 강력한 항 증식 활성을 나타내는 것은 주스이며 이어서 TPT, punicalagin, EA 순으로 나타난다. 결국 석류 주스에는 pro-apoptotic 인자뿐만 아니라 항apoptotic 인자가 동시에 함유되어 있음을 시사한다[80]. Caco-2 사람결장암세포에서는 punicalagin과 그 가수분해 산물인 EA 모두가 cyclin A와 B1을 억제하고 cyclin E를 증강시켜 S기에서 세포 주기가 정지되나, CCD-112CoN 정상 결장세포에서는 이러한 결과가 관찰되지 않는다. 또한 내재경로에 의한 apoptosis (FAS-비의존성, caspase 8-비의존성)는 Bcl-XL을 억제하고 미토콘드리아에서 cytochrome c를 세포질로 방출시키며 initiator caspase 9와 effector caspase 3의 활성화를 동시에 일으킨다. 따라서 punicalagin의 이러한 효과들은 대부분 또는 전부 EA에 의해 매개되며[51], 그 결과 석류 추출물은 여러 가지의 호르몬 비의존성 암세포주에서 선택적으로 apoptosis를 촉진한 셈이 된다. 석류의 EA는 그 이외에도 NF-κB, COX-2, cyclin D1 (component subunit of Cdk4 and Cdk6), MMP-9, PDGF, VEGF, p21/WAF1, p53 등에 대한 작용 타겟으로 알려져 있다[6].

발암관련 효소의 활성저해에 의한 항암효과

발암과 연관된 효소들로는 세포주기관련성인 p27 kinase (p27KIP1), cdk, 전이 관련성인 COX-2, inducible nitric acid oxide synthase (iNOS), MMP, LOX, Protein 인산화 관련성인 protein kinase (PK-A, B, C), MAPK, c Jun N-terminal kinase (JNK), pyruvate dehydrogenase kinase (PDK), protein tyrosine kinase (PTK), apoptosis 관련성인 polyadenosine-5'-dephosphate-ribose polymerase (PARP), 그 외의 phospholipase A (cPLA2), extracellular signal-regulated kinase (ERK) 등을 들 수 있다[6]. 그러나 석류의 성분이 이들 효소와 연관되어 그 기작이 연구된 예는 아직 미흡하나 carbonic anhydrase (CA), MMP, ornithine decarboxylase (ODC) 등과 연관된 결과는 다음과 같다.

포유류의 CA는 최소한 14개의 아이소형으로 존재하며 탄산가스의 생체막 통과 시 빠른 확산으로 HCO₃⁻를 생성한다[30] *in vitro* 및 *in vivo*에서 CA의 저해제(CAI)는 강력한 암세포 증식억제효과가 있기 때문에 새로운 항암제로서의 가능성이 있다[43, 72]. 즉 석류 껍질 추출물과 활성 ellagitannins은 *p*-nitrophenyl acetate의 de-esterification 반응을 수행하는 CA를 저해하기 때문에 항암 기전으로 설명될 수 있다[77]. MMP 저해는 구조 단백을 파괴하여 세포간극 공간을 생성시킴으로서 세포의 정상적인 형태형성을 방해하며 복합적인 염증 반응을 나타나게 하여[75], 암의 침윤이나 전이 저지와 연관되어 암세포 증식 억제효과가 나타난다. 이 효소는 벌꿀의 밀납에 함유된 caffeic acid phenethyl ester (CAPE)에 의해 저해되기도 한다[33]. 사람의 연골세포 MMP는 전과일 아세톤 추출액에 의해, 섬유아세포 MMP-1는 과피 추출물, 또는 발효주스에 의해 저해되며 PSE에 의해서도 다소 약하게 저해된다[10].

L-arginine이 분해되어 ornithine으로 전환되면 ODC에 의해 putrescine, spermidine, spermine과 같은 polyamine으로 전환되는데, 이때 생성된 polyamine은 원핵 및 진핵세포에서 성장 과정을 조절하거나, 암의 성장을 촉진한다[13]. 이 때 표피 ODC에 종자유[31] 또는 과일 아세톤 추출물[5]을 처리한 경우 polyamine의 생성이 저해 되어 항암효과가 나타난다.

내인성 에스트로겐 합성의 속도조절효소로서, aromatase는 estrogen synthase로서, androstenedione과 testosterone으로부터 estrone과 estradiol을 각각 생성하므로[40], 호르몬 의존성 암을 촉진할 수 있다. 이러한 aromatase는 석류 발효 주스나 과피 추출물에 의해 강하게, 종자유에 의해서는 약하게 억제되기 때문에 그 항암효과가 인정된다. 실제 유방암세포에서도 저해효과가 나타났는데 이는 aromatase의 저해에 기인된 것으로 해석할 수 있다[40].

신생혈관형성을 특이적으로 저해하는 석류발효주스 또는 CO₂ 추출 종자유

신생혈관형성(angiogenesis)은 종양이 성장하고 전이할 때 산소와 영양을 공급하므로 필수적이다. 이 치료방법은 1972년 Judah Folkman [23]이 처음 제안하였는데 독성이 적었기 때문에 고형 종양 환자에서 가장 이상적인 접근법이었다.

닭 융모막요막(chicken chorioallantoic membrane, CAM)의 신생혈관 형성, 또는 ER⁺ MCF-7의 VEGF 활성은 석류 발효주스 또는 CO₂ 추출 종자유에 의해서 비교적 강하게 억제되나, 정상 유방 상피세포인 MCF-10A에서는 더욱 강하게 억제된다. 그러나 ER⁻ MDA-MB-231에서는 약하게 나타나며 과피 추출물이나 착유 종자유로 처리한 경우는 그 효과가 현저히 약하다[42, 91]. 이와 같이 ER 결손 마우스에서는 신생혈관형성이 일어나지 않음은 에스트로겐 수용체의 발현과 연관되어 있음을 의미한다. 특히 MDA-MB-231에서

는 혈관 생성을 억제하는 이주저해인자(MIF)의 활성이 현저히 강하였으며, 또한 사람태줄정맥상피세포(HUVEC)의 증식이나 미세관 형성(tubule formation) 역시 중등도로 억제되었는데 이는 과피 추출물이나 발효주스 성분이 종자유에 비해 human myometrial 섬유아세포 증식을 선택적으로 강하게 억제하였기 때문이다[91].

전립선암의 실제 치료 효과

실제 전립선암환자에서의 석류 주스의 치료 효과

에스트로겐에 대응되는 phytoestrogen 약제의 투여로 월경증세를 완화하는 거의 여부를 이중맹검법으로 무작위조작 실험을 수행하여 장, 단기간의 효과를 검토하였던바, black cohosh 단독 또는 석류에 알팔파, 감초, 인삼 등의 혼합제, 이들 혼합제에 식용 콩을 부가한 경우, 등을 처방하여 검토한 바 한약제의 부가 효과가 인정되었다[66].

또 전립선암 환자에서 수술 혹은 방사선 요법으로 치료 후 전립선 특이항원(PSA)이 점차 증가되는 단계에 있는 환자 46명을 대상으로 2년간, phase-2로 실험하였다. 병이 진단될 때 까지 매일 8온스의 석류(품종은 wonderful)주스, gallic acid 570 mg에 상당하는 양을 기초 15개월, 연장 시 54개월간 투여시 PSA의 배가시간이 현저하게 증강되며(15-37개월($p < 0.048$)) 부작용은 없었다. 더욱이 *in vitro* LNCaP 성장에서 처리 전, 후의 환자 혈액을 비교한 바 12% 감소된 세포증식, 17% 증가된 apoptosis (각각 $p = 0.0048$ 및 0.0004), 23% 증가된 nitric oxide ($p = 0.0085$) 활성이 혈액에 나타나며, 혈액 지방의 산화 상태 또는 산화 감도를 석류주스 소비 전, 후에 검정하던 바, 심한 환원($p < 0.02$) 상태를 나타내었다. 치료가 인정된 환자는 PSA > 0.2 또는 < 5 ng/ml로 나타났는데 이는 기초 PSA 배가시간(PSADT)을 측정하기 위한 충분한 전처리 PSA시간이었으며 회복기간의 환자로 구분되었다. 연구에 진입하기 전 호르몬 요법을 하지 않은 경우는 전이 흔적이 없는 경우로 Gleason 점수가 < 7 이다[70]. 마커로 혈액, 뇨의 EA 레벨을 포함하였으나, 통계적으로 PSA가 확실하게 증가되며 *in vitro* 세포증식, apoptosis, 산화적 스트레스 등의 실험실 효과와 *in vivo* 효과가 일치한다[71].

석류 제제

이스라엘의 Purisgn 제약(주)에서는 석류 발효액으로 Cardiogranate, 석류 리퀴어 Pomegrappa 및 종자유를 생산하고 있다. Pomegrappa는 위스키류로서 38%의 알코올을 함유하며 Organic Health Wine으로서 석류 Health Liqueur(16% 알코올)도 생산한다. Cardiogranate는 열매에서 분리한 성분으로 제조한 심혈관 건강제이다. Cardiogranate는 동맥혈관계를 광범위하게 보호하며 EA, luteolin, naringin, quercetin 등이 함유되어 있다. 일본의 경우에는 석류과즙농축

액[zakuro extract, Orihiro (주)], 페르샤 석류 드링크[석류 종자 추출물 배합, Orihiro (주)], 석류 농축액[Kirin-Asupro (주)] 등이 현재 생산 시판되고 있다. 국내에서는 본 연구진에서 석류 엑기스, 드링크제, 음료, 타블렛, 세립 등의 제조 공정 확립 및 시작품을 제조한 바 있고[88], 구강 위생제도 보고되었다[44]. 향후 석류 자원의 항HIV제제, 화장품, 알레르기증 완화제, 심혈관 보호제, 안연고, 체중 감량 비누, 진단영상에서 방사선염료 제거 등에 이르기까지 다양한 분야에서 제품들이 개발되어 시판되고 있거나 그 가능성이 제시되고 있다[49].

결 언

석류(*Punica granatum*, L., Pomegranate)는 그 종자 개수와 구약의 율법이 613으로 우연히 일치되었기 때문에 하나의 씨앗이 하나의 율법이라는 의미로 유대인들에게는 신성시 되어 왔으며[47] 다양한 유효성분들이 하나의 종자, 주스, 그리고 껍질에 함유되어 있다. 최근 석류에 대한 관심은 폭발적으로 증가하여 최근 7년간에 Medline 등재논문 수가 그 이전에 등록된 논문 편수의 약 7배로써 엄청나게 증폭되고 있다[49]. 이러한 폭발적인 수직적 증가는 항 에스트로겐, 항암성과 연관되어 폐경기 여성, 또는 갱년기 남성의 유방암, 전립선암의 예방과 맞물려 석류의 의약학적 및 영양적 건강 관련 제품들을 증폭시키게 되었다. 한 때 석류에서 phytoestrogen으로써 17α -estradiol, 17β -estradiol, 또는 estrone, estradiol 등의 에스트로겐이 실제 함유되어 있다는 보고가 있는 후[45] 관련 분야의 기능성 제제는 폭발적으로 증가하였으나 본 연구실 및 식약청의 연구결과 오류였음이 확인된[17, 88] 이후 그 소용돌이가 다소 잠잠해지기는 하였으나 여전히 그 약효의 실체가 실제 존재할 것으로 인식되어 타겟 성분의 탐색은 많은 매력을 지닌 분야로 클로즈업되고 있다. 특히 주스와 과일 껍질은 강한 항산화적 성질을 나타내며 종자유는 약한 항 에스트로겐 활성을 나타내어 여성의 폐경기 장애를 해소시켜 주는 것으로 알려져 있다. 이들은 또한 유방암 및 전립선암 예방, 암세포 증식 억제, 세포 주기, 침윤, 혈관형성 등의 간섭인자로서 항암 활성을 나타내기도 하며, 강력한 동맥경화성의 병반 분해, 가장 강력한 천연의 항산화 활성 등과 연관되어 그 기능성 성분은 의학, 치료, 수명, 배란 등에서 개발 가능성이 널리 제시되고 있다. 석류 유래제품으로 AIDS에 대한 약제, 화장품, 호르몬 대체 요법제, 알레르기 증상 완화제, 심혈관 보호제, 구강 위생제, 안연고, 체중감량비누, 진단영상시 방사선염료의 효능증폭 보조제 등이 보고되고 있으며 전통적인 민간약으로 전 세계적으로 널리 사용되고 있음을 감안할 때[49] 실제 이들 약효 성분의 본체를 밝히는 실험은 향후 더욱 진전될 것이다.

약효면에서 석류에 경쟁적인 포도류는 French paradox의 본체로 알려진 resveratrol 이외에도 anthocyanines, flavonoids,

flavonols, flavanols, ellagitannins, gallotannins, proanthocyanidins 및 phenolic acids 등의 활성성분[80]이 있는데 이들은 석류와 유사하므로 향후 이들 두 가지 과일의 약효에 대한 복합처방의 상승효과는 phytoestrogen의 새로운 장을 열 수 있을 것이다. 특히 blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, strawberry 등의 활성성분으로 알려진 항산화제, 항암제, 항염증제등과 복합 처방시 활성의 상승효과에 대한 귀추가 주목된다.

사 사

본 연구는 2002-2005 농림기술관리센터 (ARPC) 연구지원금 및 2003 경북대학교 연구지원금(KNURT)에 의하여 수행되었다. 원고작성에 많은 정보와 석류종자를 제공해주신 이스라엘 Ephraim P. Lansky 박사(Punisyn Pharmaceuticals, Ltd.)와 협력업체 이상인 사장(주) 지리산 두레마을)에게 감사사를 드린다.

REFERENCES

1. 강춘기. 1990. 우리나라 과실류의 역사적 고찰, *Korean J. Dietary Culture*, **5**: 301-312.
2. 김학규, 노치웅, 정병만, 하용근, 신원교. 1994. 석류재배실태조사 및 우량품종 수집(과수재배 및 품질향상 연구), *농진청 보고서*. pp. 448-450,
3. 이성우, 김광수, 김순동. 1974. 석류과실의 성숙에 따른 성분변화에 관한연구 I, II. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.*, **15**: 57-71.
4. Afaq, F., A. Malik, D. Syed, D. Maes, M. S. Matsui, and H. Mukhtar. 2005. Pomegranate fruit extract modulates UV-B-mediated phosphorylation of mitogen-activated protein kinases and activation of NF- κ B in normal human epidermal keratinocytes paragraph sign. *Photochem. and Photobiol.* **81**: 38-45.
5. Afaq, F., M. Saleem, C. G. Krueger, J. D. Reed, and H. Mukhtar. 2005. Anthocyanin-and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF- κ B pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *Int. J. Cancer* **113**: 423-433.
6. Aggarwal, B. B. and S. Shishodia. 2006. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol.* **71**: 1397-1421.
7. Ajaikumar, K. B., M. Asheef, B. H. Babu, and J. Padikkala. 2005. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. (pomegranate) methanolic extract. *J. Ethno-Pharmacol.* **96**: 171-176.
8. Albertazzi, P. and D. W. Purdie. 2001. The life and times of the estrogen receptors: an interim report. *Climacteric* **4**: 194-202.
9. Albrecht, M., W. Jiang, J. Kumi-Diaka, E. P. Lansky, L. M. Gommersall, A. Patel, R. E. Mansel, I. Neeman, A. A. Geldof, and M. J. Campbell. 2004. Pomegranate extracts potently suppress proliferation, xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. *J. Med. Food* **7**: 274-283.
10. Aslam, M. N., H. Fligiel, H. Lateef, G. J. Fisher, I. Ginsburg, and J. Varani. 2005. PADMA28: a multi-component herbal preparation with retinoid-like dermal activity but without epidermal effects. *J. Invest. Dermatol.* **124**: 524-529.
11. Aviram, M., M. Rosenblat, D. Gaitini, S. Nitecki, A. Hoffman, L. Dornfeld, N. Volkova, D. Presser, J. Attias, H. Liker, and T. Hayek. 2004. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clin. Nutr.* **23**: 423-433.
12. Azadzo, K. M., R. N. Schulman, M. Aviram, and M. B. Siroky. 2005. Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: prophylactic role of antioxidants. *J. Urol.* **174**: 386-393.
13. Bachrach, U. 2004. Polyamines and cancer: minireview article. *Amino Acids* **26**: 307-309.
14. Balkwill, F., K. A. Charles, and A. Mantovani. 2005. Smoldering inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell* **7**: 211-217.
15. Bouker, K. B. and L. Hilakivi-Clarke. 2000. Genistein: does it prevent or promote breast cancer? *Environ. Health Perspect.* **108**: 701-708.
16. Cerda, B., C. Soto, M. D. Albaladejo, P. Martinez, F. Sanchez-Gascon, F. Tomas-Barberan, and J. C. Espin. 2006. Pomegranate juice supplementation in chronic obstructive pulmonary disease: a 5-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* **60**: 245-253.
17. Choi, D. W., J. Y. Kim, S. H. Choi, H. S. Jung, H. J. Kim, S. Y. Cho, C. S. Kang, and S. Y. Chang. 2006. Identification of steroid hormones in pomegranate using HPLC and GC-mass spectrometry. *Food Chem.* **96**: 562-571.
18. Cowley, S. M., S. Hoare, S. Mosselman, and M. G. Parker. 1997. Estrogen receptors α & β form heterodimers on DNA. *J. Biol., Chem.* **272**: 19858-19862.
19. Cunningham, D. C., L. Y. Harrison, and T. D. Shultz. 1997. Proliferative responses of normal human mammary and MCF-7 breast cancer cells to linoleic acid, conjugated linoleic acid and eicosanoid synthesis inhibitors in culture. *Anticancer Res.* **17**: 197-203.
20. Deitch, H. R., J. L. Mershon, and K. E. Clark. 2001. Estrogen receptor β is the predominant isoform expressed in the brain of adult and fetal sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **184**: 1077-1079.
21. Esmailzadeh, A., F. Tahbaz, I. Gaieni, H. Alavi-Majd, and L. Azadbakht. 2004. Concentrated pomegranate juice improves lipid profiles in diabetic patients with hyperlipidemia. *J. Med. Food* **7**: 305-308.
22. Fatope, M. O., S. K. Al Burtomani, and Y. Takeda. 2002. Monoacylglycerol from *Punica granatum* seed oil. *J. Agr. Food Chem.* **50**: 357-360.
23. Folkman, J. 1972. Anti-angiogenesis: new concept for

- therapy of solid tumors. *Annals Surgery* **175**: 409-416.
24. Ghadirian, P., J. M. Ekoe, and J. P. Thouez. 1992. Food habits and esophageal cancer: an overview. *Cancer Detect. Prev.* **16**: 163-168.
 25. Grosser, T., S. Fries, and G. A. FitzGerald. 2006. Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. *J. Clin. Invest.* **116**: 4-15.
 26. Halicka, H. D., X. Huang, F. Traganos, M. A. King, W. Dai, and Z. Darzynkiewicz. 2005. Histone H2AX phosphorylation after cell irradiation with UV-B: relationship to cell cycle phase and induction of apoptosis. *Cell Cycle* **4**: 339-345.
 27. Halvorsen, B. L., K. Holte, M. C. W. Myhrstad, I. Barikmo, E. Hvattum, S. F. Remberg, A-B. Wold, K. Haffner, H. Baugerod, L. F. Andersen, J. O. Moskaug, D. R. Jr. Jacobs, and R. Blomhoff. 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J. Nutr.* **132**: 461-471.
 28. Harris, H. A. 2007. Estrogen receptor: Recent lessons from in vivo studies. *Mol. Endocrinol.* **21**: 1-13.
 29. Hartman, R. E., A. Shah, A. M. Fagan, K. E. Schwetye, M. Parsadanian, R. N. Schulman, M. B. Finn, and D. M. Holtzman. 2006. Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* **24**: 506-515.
 30. Henry, R. P. and E. R. Swenson. 2000. The distribution and physiological significance of carbonic anhydrase in vertebrate gas exchange organs. *Resp. Physiol.* **121**: 1-12.
 31. Hora, J. J., E. R. Maydew, E. P. Lansky, and C. Dwivedi. 2003. Chemopreventive effects of pomegranate seed oil on skin tumor development in CD1 mice. *J. Med. Food* **6**: 157-161.
 32. Huang, T. H. W., G. Peng, B. P. Kota, G. Q. Li, J. Yamahara, B. D. Rouforalis, and Y. Li. 2005. Anti-diabetic action of *Punica granatum* flower extract: Activation of PPAR- α and identification of an active component. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **207**: 160-169.
 33. Hwang, H. J., H. J. Park, H. J. Chung, H. Y. Min, E. J. Park, J. Y. Hong, and S. K. Lee. 2006. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on cancer cell metastasis mediated by the down-regulation of matrix metalloproteinase expression in human HT1080 fibrosarcoma cells. *J. Nutr. Biochem.* **17**: 352-362.
 34. Ishunina, T. A., F. P. Kruijver, R. Balesar, and D. F. Swaab. 2000. Differential expression of estrogen receptor α and β immunoreactivity in the human supraoptic nucleus in relation to sex and aging. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **85**: 3283-3291.
 35. Jahfar, M., K. K. Vijayan, and P. Azadi. 2003. Studies on a polysaccharide from the fruit rind of *Punica granatum*. *Res. J. Chem. Environ.* **7**: 43-50.
 36. Jensen, E. V., G. Cheng, C. Palmieri, S. Saji, S. Makela, S. Van Noorden, T. Wahlstrom, M. Warner, R. C. Coombes, and J. A. Gustafsson. 2001. Estrogen receptors and proliferation markers in primary and recurrent breast cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**: 15197-15202.
 37. Jeune, M.A., J. Kumi-Diaka, and J. Brown. 2005. Anticancer activities of pomegranate extracts and genistein in human breast cancer cells. *J. Med. Food* **8**: 469-475.
 38. Johar, D., J. C. Roth, G. H. Bay, J. N. Walker, T. J. Krocak, and M. Los. 2004. Inflammatory response, reactive oxygen species, programmed (necrotic-like and apoptotic) cell death and cancer. *Rocz. Akad. Med. Bialymst.* **49**: 31-39.
 39. Jung, K.H., M. J. Kim, E. Ha, Y. K. Uhm, H. K. Kim, J. H. Chung, and S. V. Yim. 2006. Suppressive effect of *Punica granatum* on the production of tumor necrosis factor (Tnf) in BV2 microglial cells. *Biol. Pharm. Bull.* **29**: 1258-1261.
 40. Karaer, O., S. Oruc, and F. M. Koyuncu. 2004. Aromatase inhibitors: possible future applications. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **83**: 699-706.
 41. Kaur, G., Z. Jabbar, M. Athar, and S. Alam. 2006. *Punica granatum* flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem. Toxicol.* **44**: 984-993.
 42. Kawaii, S. and E. P. Lansky. 2004. Differentiation-promoting activity of pomegranate (*Punica granatum*) fruit extracts in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. *J. Med. Food* **7**: 13-18.
 43. Khalifah, R. G. 2003. Reflections on Edsall's carbonic anhydrase: paradoxes of an ultra fast enzyme. *Biophys. Chem.* **100**: 159-170.
 44. Kim, M.M. and S. Kim. 2002. Composition for improving oral hygiene containing *Punica granatum* L. extract. *Korean Patent* : KR 2002066042.
 45. Kim, N.D., R. Mehta, W. Yu, I. Neeman, T. Livney, A. Amichay, D. Poirier, P. Nicholls, A. Kirby, W. Jiang, R. Mansel, C. Ramachandran, T. Rabi, B. Kaplan, and E. Lansky. 2002. Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* **71**: 203-217.
 46. Kohno, H., R. Suzuki, Y. Yasui, M. Hosokawa, K. Miyashita, and T. Tanaka. 2004. Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Science* **95**: 481-486.
 47. Langlely, P. 2000. Why a pomegranate? *B. M. J.* **321**: 1153-1154.
 48. Lansky, E. P., G. Harrison, P. Froom, and W. G. Jiang. 2005. Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Invest New Drugs* **23**: 121-122.
 49. Lansky E. P. and R. A. Newman. 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. Ethnopharmacol.* **109**: 177-206.
 50. Lansky, E. P., W. Jiang, H. Mo, L. Bravo, P. Froom, W. Yu, N. M. Harris, I. Neeman, and M. J. Campbell. 2005. Possible synergistic prostate cancer suppression by anatomically discrete pomegranate fractions. *Invest. New Drugs* **23**: 11-20.
 51. Larrosa, M., F. A. Tomas-Barberan, and J. C. Espin. 2006.

- The dietary hydrolysable tannin punicalagin releases ellagic acid that induces apoptosis in human colon adenocarcinoma Caco-2 cells by using the mitochondrial pathway. *J. Nutr. Biochem.* **17**: 611-725.
52. Liu, J. and N. Sidell. 2005. Anti-estrogenic Effects of Conjugated Linoleic Acid through Modulation of Estrogen Receptor Phosphorylation.. *Breast. Cancer. Res. Treat.* **2005** **94**: 161-169.
 53. Liu, J., J. E. Burdette, Y. Sun, S. Deng, S. M. Schlecht, W. Zheng, D. Nikolic, G. Mahady, R. B. van Breemen, H. H. Fong, J. M. Pezzuto, J. L. Bolton, and N. R. Farnsworth. 2004. Isolation of linoleic acid as an estrogenic compound from the fruits of *V. agnus-castus* L. *Phytomedicine* **11**: 18-23.
 54. Liu, J., B. Chen, Y. Yang, and X. Wang. 2004. Effect of apoptosis in human mammary cancer (MCF-7) cells induced by cis9, t11-conjugated linoleic acid. *Wei Sheng Yan Jiu.* **33**: 58-62.
 55. Lloyd, J. U. 1897. *Punica granatum*. *The Western Druggist*, Chicago, May, 8 pp1-9. Reprinted at <http://www.swsbm.com/ManualsOther/Punica granatum-Lloyd. PDF>
 56. Longtin, R. 2003. The pomegranate: nature's power fruit? *J. Natl. Cancer Inst.* **95**: 346-348.
 57. Loren, D. J., N. P. Seeram, R. N. Schulman, and D. M. Holtzman. 2005. Maternal dietary supplementation with pomegranate juice is neuroprotective in an animal model of neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Pediatr Res.* **57**: 858-864.
 58. Malik, A., F. Afaq, S. Sarfaraz, V. M. Adhami, D. N. Syed, and H. Mukhtar. 2005. Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**: 14813-14818.
 59. Manas, E. S., R. J. Unwalla, Z. B. Xu, M. S. Malamas, C. P. Miller, H. A. Harris, C. Hsiao, T. Akopian, W. T. Hum, K. Malakian, S. Wolfrom, A. Bapat, R. A. Bhat, M. L. Stahl, W. S. Somers, and J. C. Alvarez. 2004. Structure-based design of estrogen receptor- β selective ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **126**: 15106-15119.
 60. Maru, I., J. Ohnishi, S. Yamaguchi, Y. Oda, K. Kakehi, and Y. Ohta. 2001. An estrogen-like activity in pomegranate juice. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* **48**: 146-149.
 61. Mehta, R. and E. P. Lansky. 2004. Breast cancer chemopreventive properties of pomegranate (*Punica granatum*) fruit extracts in a mouse mammary organ culture. *Eur. J. Cancer Prev.* **13**: 345-348.
 62. Miguel, G., C. Fontes, D. Antunes, A. Neves, and D. Martins. 2004. Anthocyanin concentration of "Assaria" pomegranate fruits during different cold storage conditions. *J. Biomed. Biotechnol.* **2004**: 338-342.
 63. Mori-Okamoto, J., Y. Otawara-Hamamoto, H. Yamato, and H. Yoshimura. 2004. Pomegranate extract improves a depressive state and bone properties in menopausal syndrome model ovariectomized mice. *J. Ethnopharmacol.* **92**: 93-101.
 64. Mosselman S., J Polman, R. Dijkema, ER β : identification and characterization of a novel human estrogen receptor, FEBS Lett. **392**, 49-53, 1996
 65. Munde, S. S., V. K. Patil, and S. D. Chavan. 1981. Chemical composition of pomegranate (*Punica granatum* L.) leaves sampled during different stages of crop. *Food Farm. Agr.* **13**: 177-181.
 66. Newton, K. M., S. D. Reed, L. Grothaus, K. Ehrlich, J. Guiltinan, E. Ludman, and A. Z. Larcroix. 2005, The Herbal Alternatives for Menopause (HALT) Study: background and study design, *Endocrinol.* **52**: 134-46
 67. Noguchi, K., K. Iwasaki, H. Endo, H. Kondo, M. Shitashige, and I. Ishikawa. 2000. Prostaglandins E2 and I2 downregulate tumor necrosis factor α -induced intercellular adhesion molecule-1 expression in human oral gingival epithelial cells. *Oral Microbiol. Immunol.* **15**: 299-304.
 68. Ozcal, N. and S. Dinc. 1993. Evaluation of the pomegranate (*Punica granatum* L.) peels from the standpoint of pharmacy. *Eczacılık Fakültesi Dergisi* **22**: 21-29.
 69. Palmieri, C., G. J. Cheng, S. Saji, M. Zelada-Hedman, A. Warri, Z. Weihua, S. Van Noorden, T. Wahlstrom, R. C. Coombes, M. Warner, and J. A. Gustafsson. 2002. Estrogen receptor β in breast cancer. *Endocr. Relat. Cancer.* **9**: 1-13.
 70. Pantuck, A. J., J. T. Leppert, N. Zomorodian, W. Aronson, J. Hong, R. J. Barndard, M. Seera, H. Liker, H. Wang, R. Elashoff, D. Heber, M. Aviram, L. Ignarro, and A. Belldegrun. 2006. Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* **12**: 4018-4026.
 71. Pantuck, A. J., N. Zomorodian, and A. S. Belldegrun. 2006. Phase-II study of pomegranate juice for men with prostate cancer and increasing PSA. *Cur. Urol. Rep.* **7**: 7.
 72. Pastorekova, S., S. Parkkila, J. Pastorek, and C. T. Supuran. 2004. Carbonic anhydrases: current state of the art, therapeutic applications and future prospects. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **19**: 199-229.
 73. Polagruto, J. A., D. D. Schramm, J. F. Wang-Polagruto, L. Lee, and C. L. Keen. 2003. Effects of flavonoid-rich beverages on prostacyclin synthesis in humans and human aortic endothelial cells: association with ex vivo platelet function. *J. Med. Food* **6**: 301-308.
 74. Ricci, D., L. Giamperi, A. Bucchini, and D. Fraternal. 2006. Antioxidant activity of *Punica granatum* fruits. *Fitoterapia* **77**: 310-312.
 75. Salvi, G. E. and N. P. Lang. 2005. Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J. Clin. Periodontol.* **32**: 108-129. Comment: *J. Clin. Periodontol.* **32**: Suppl 6: 130-131.
 76. Sastravaha, G., G. Gassmann, P. Sangtherapitikul, and W. D. Grimm. 2005. Adjunctive periodontal treatment with *Centella asiatica* and *Punica granatum* extracts in supportive periodontal therapy. *J. Int. Acad. Periodontol.* **7**: 70-79.
 77. Satomi, H., K. Umemura, A. Ueno, T. Hatano, T. Okuda, and T. Noro. 1993. Carbonic anhydrase inhibitors from the pericarps of *Punica granatum* L. *Biol. Pharm. Bull.* **16**: 787-790.

78. Schubert, S. Y., E. P. Lansky, and I. Neeman. 1999. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J. Ethnopharmacol.* **66**: 11-17.
79. Schubert, S. Y., I. Neeman, and N. Resnick. 2002. A novel mechanism for the inhibition of NF-kappaB activation in vascular endothelial cells by natural antioxidants. *FASEB (Fed. Amer. Soc. Exp. Biol.) J.* **16**: 1931-1933.
80. Seeram, N. P., L. S. Adams, S. M. Henning, Y. Niu, Y. Zhang, M. G. Nair, and D. Heber. 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *J. Nutr. Biochem.* **16**: 360-367.
81. Seeram, N. P., L. S. Adams, Y. Zhang, R. Lee, D. Sand, H. S. Scheuller, and D. Heber. 2006. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells *in vitro*. *J. Agric. Food. Chem.* **54**: 9329-9339.
82. Settheetham, W. and T. Ishida, 1995. Study of genotoxic effects of antidiarrheal medicinal herbs on human cells *in vitro*. *The Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* **26**: 306-310.
83. Sharaf, A. and S. A. R. Nigm. 1964. The estrogenic activity of pomegranate seed oil, *J. Endocrinol.* **29**: 91-92.
84. Shukla, S. and S. Gupta. 2004. Molecular mechanisms for apigenin-induced cell cycle arrest and apoptosis of hormone refractory human prostate carcinoma DU145 cells. *Mol. Carcinog.* **39**: 114-126.
85. Simmons, D. L. and C. D. Buckley. 2005. Some new, and not so new, antiinflammatory targets. *Curr. Opinion Pharmacol.* **5**: 394-397.
86. Smith, R. G. 2000. The aging process: where are the drug opportunities? *Curr. Opin. Chem. Biol.* **4**: 371-376.
87. Song, R. X. and R. J. Santen. 2003. Apoptotic action of estrogen. *Apoptosis* **8**: 55-60.
88. Song, B. H., K. S. Song, J. G. Kim, Y. H. Kim, Y. B. Seu, S. Y. Ghim, J. M. Lee, and S. H. Kim. 2005. Development of functional food using Reinforced antioxidants and phytoestrogens from *Punica granatum*. *Final Report for ARPC Project*. pp19-100, Ministry of Agriculture, Seoul, Korea
89. Sushanta, K., A. Banerjee, A. Islam, and S. Banerjee. 2005. The regulatory role of estrogen in carcinogenesis: an overview. *Phytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention*. pp105-121. CRC Press. U.S.A.
90. Suzuki, R., R. Noguchi, T. Ota, M. Abe, K. Miyashita, and T. Kawada. 2001. Cytotoxic effect of conjugated trienoic fatty acids on mouse tumor and human monocytic leukemia cells. *Lipids* **36**: 477-482.
91. Toi, M., H. Bando, C. Ramachandran, S. J. Melnick, A. Imai, R. S. Filé, R. E. Carr, T. Oikawa, and E. P. Lansky. 2003. Preliminary studies on the anti-angiogenic potential of pomegranate fractions *in vitro* and *in vivo*. *Angiogenesis* **6**: 121-128.
92. Tran H. N. A. and B. H. Song. 2005. Existence of α -eleostearic acid in pomegranate seed oil and its binding activity against ER α & ER β . *Proc. KSMCS Int. Symposium.* **13**: 205-206.
93. Tran H. N. A., S. H. Yoon, Y. S. Bae, and B. H. Song. 2005. Effect of punicic acid in pomegranate seed oil to the human breast cancer cell proliferation. *Proc. KSMCS Int. Symposium.* **13**: 203-204.
94. Tsutsui, T. and I. C. Barrett. 1997. Neoplastic transformation of cultured mammalian cells by estrogens and estrogen like chemicals. *Environ. Health. Perspect.* **3**: 619-624.
95. Tsuzuki, T., M. Igarashi, and T. Miyazawa. 2004. Conjugated eicosapentaenoic acid (EPA) inhibits transplanted tumor growth via membrane lipid peroxidation in nude mice. *J. Nutr.* **134**: 1162-1166.
96. Tsuzuki, T., Y. Tokuyama, M. Igarashi, and T. Miyazawa. 2004. Tumor growth suppression by α -eleostearic acid, a linolenic acid isomer with a conjugated triene system, via lipid peroxidation. *Carcinogenesis.* **25**: 1417-1425.
97. Vidal, A., A. Fallarero, B. R. Pena, M. E. Medina, B. Gra, F. Rivera, Y. Gutierrez, and P. M. Vuorela. 2003. Studies on the toxicity of *Punica granatum* L. (Punicaceae) whole fruit extracts. *J. Ethnopharmacol.* **89**: 295-300.
98. Wang, R., W. Wang, L. Wang, R. Liu, D. Y. Li, and L. Du. 2006. Constituents of the flowers of *Punica granatum*. *Fitoterapia* **77**: 534-537
99. Xu, J., C. J. Guo, J. J. Yang, J. Y. Wei, Y. F. Li, W. Pang, Y. G. Jiang, and S. Cheng. 2005. Intervention of antioxidant system function of aged rats by giving fruit juices with different antioxidant capacities. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* **39**: 80-83.
100. Yasui, Y., M. Hosokawa, H. Kohno, T. Tanaka, and K. Miyashita. 2006. Growth inhibition and apoptosis induction by all-trans-conjugated linolenic acids on human colon cancer cells. *Anticancer Res.* **26**: 1855-1860.
101. Zand, R. S., D. J. Jenkins, and E. P. Diamandis. 2000. Steroid hormone activity of flavonoids and related compounds. *Breast Cancer Res. and Treat.* **62**: 35-49.
102. Zhu, B. T., G. Z. Han, J. Y. Shim, Y. Wen, and X. R. Jiang. 2006. Quantitative structure-activity relationship of various endogenous estrogen metabolites for human ER α & β subtypes: Insights into the structural determinants favoring a differential subtype binding. *Endocrinol.* **147**: 4132-4150.
103. Zhu, Y., Z. Bian, P. Lu, R. H. Karas, L. Bao, D. Cox, J. Hodgkin, P. W. Shaul, P. Thoren, O. Smithies, J. A. Gustafsson, and M. E. Mendelsohn. 2002. Abnormal vascular function and hypertension in mice deficient in estrogen receptor β . *Science* **295**: 505-508.
104. Zhu, Y. S., L. Q. Cai, Y. Huang, J. Fish, L. Wang, Z. K. Zhang, and J. L. Imperato-McGinley. 2005. Receptor isoform and ligand-specific modulation of dihydrotestosterone-induced prostate specific antigen gene expression and prostate tumor cell growth by estrogens. *J. Androl.* **26**: 500-510.

(Received Apr. 1, 2007/Accepted May 28, 2007)