

## 대장암 세포주에 대한 만형자 (*Vitex rotundifolia*) 추출물의 항암 효과

조경진 · 윤미영 · 이미라 · 차미란 · 박해룡\*

경남대학교 식품생명학과

### The Anticancer Effect of Extracts from *Vitex rotundifolia* on Human Colon Carcinoma Cell Lines

Kyung-Jin Jo, Mi-Young Yoon, Mi-Ra Lee, Mi-Ran Cha and Hae-Ryong Park\*

Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

Received May 30, 2007; Accepted July 19, 2007

This study was performed to investigate the cytotoxic activity from *Vitex rotundifolia*. *V. rotundifolia* was extracted with methanol, ethanol, and acetone, and then the cytotoxic effect of these extracts was measured by the MTT reduction assay and morphological assay on the HT-29 human colon carcinoma cells. Among the three extracts, the acetone extract showed the highest cytotoxic activity on the HT-29 cells in a dose-dependent manner with an  $IC_{50}$  value of 10  $\mu\text{g/ml}$ . The acetone extract was further fractionated sequentially with *n*-hexane, diethyl ether, ethyl acetate, and water layer according to the degree of polarity. The *n*-hexane layer among the fractioned layers showed inhibitory activity on the growth of HT-29 cells. In addition, *n*-hexane layer also showed the cytotoxic activity against SW620 human colon carcinoma cells. These result indicated that extracts of *V. rotundifolia* may contain bioactive materials and could be potential candidates as chemotherapeutic agents against human colon carcinoma cells.

**Key words:** cytotoxic activity, HT-29 cells, MTT reduction assay, SW620 cells, *Vitex rotundifolia*

## 서 론

1960년대 이전까지 우리나라 질병 발생은 비위생적인 생활환경과 영양부족으로 전염병과 소화성 질환이 주종을 이루었으나<sup>1)</sup> 1980년대 이후 생활수준의 향상되고, 식생활이 서구화되면서 질병의 양상도 크게 바뀌어 영양부족으로 인한 질환은 감소한 반면, 비만이나 암과 같은 만성 퇴행성 질환이 크게 증가하고 있다<sup>2-5)</sup>. 이들 중에서도 암은 서구 선진국은 물론 국내에서도 꾸준히 증가하고 있지만<sup>6)</sup> 아직까지 효과적이면서 부작용이 없는 치료법이 개발되지 못하고 있는 실정이다.

특히 대장암은 혈관을 중심으로 많은 수의 세포들이 서로 덩어리진 형태로 성장하는 대표적인 고형암 세포로서 대장암 세포의 중심부까지 약물이 제대로 투과하지 못하기 때문에 대장암 세포를 완전히 제거하기란 쉬운 일이 아니다<sup>7-8)</sup>. 현재 대장암을 치료하는 방법으로는 방사선요법, 화학적요법 및 외과적 수술요법 등이 추가 되고 있으며<sup>9-12)</sup>, 대장암의 수술 후 보조 항암요법제로 5-Fluorouracil(5-FU)과 leucovorin, oxaliplatin,

CPT-11 등이 사용되고 있다<sup>13-17)</sup>. 그러나 이들의 치료적 한계는 물론 조혈기능 억제(백혈구 감소, 혈소판 감소, 빈혈), 소화 장애, 간장 장애, 메스꺼움 및 구토, 점막궤양, 탈모증 등을 초래하게 되며<sup>18)</sup>, 종양 세포처럼 세포 분열이 왕성한 조직에 대한 세포 독성을 근거로 하기 때문에 세포 분열이 빠른 피부, 점막 및 골수 같은 정상조직 세포에서도 독성을 나타내게 됨으로써 항암제 치료에 따른 부작용이 가장 큰 문제점으로 지적 되고 있다<sup>19-22)</sup>. 따라서 세계 각 국에서는 이러한 항암제의 부작용을 최소화 줄이고, 인체에 무해하면서도 효과적으로 암을 치료할 수 있는 새로운 약제 개발을 위하여 식물자원과 같은 천연 자원으로 부터 항암제를 찾고자하는 연구가 다각도로 진행되고 있는 실정이다<sup>23-25)</sup>.

본 연구팀에서는 국내·외에서 자생하고 있는 435가지의 약용 식물을 대상으로 인간 대장암 세포주의 성장을 효과적으로 저해하는 천연 추출물의 탐색을 시도하였다. 그 결과 만형자 (*Vitex rotundifolia*) 추출물로부터 대장암 세포주에 대한 세포독성을 확인 할 수 있었다. 본 연구에 사용된 만형자는 순비기나무의 건조한 과실로서 우리나라 중부 이남의 바닷가에서 자생하고 있으며, 형태는 지름 4-6 mm로 원구형 또는 편구형이고 성분으로는 vitexicarpin, camphene, aliphatic hydrocarbon 등이 함유되어 있다<sup>26-27)</sup>. 약리 작용으로는 항균 작용, 혈압강하 작용,

\*Corresponding author

Phone: 82-55-249-2689; Fax: 82-55-249-2995

E-mail: parkhy@kyungnam.ac.kr

진통 작용, 혈액응고 억제작용, 멜라닌색소형성 억제작용 등이 알려져 있지만, 만형자의 항암활성에 관련된 생리활성물질의 연구는 아직 초보적인 단계에 불과하다<sup>28)</sup>.

따라서 본 연구에서는 천연자원으로부터 항암활성을 가지는 물질을 탐색하기 위한 목적으로 만형자를 이용하여 여러 용매별 추출물을 암세포에 처리하여 세포독성을 확인함으로써 만형자가 가지는 항암활성 효과를 밝히고자 하였다.

## 재료 및 방법

**시약 및 실험재료.** 본 실험에 사용한 만형자는 2006년 2월 경남 마산시 (주)금강제약으로부터 제공받아 추출·분획하여 실험에 사용하였다. 대장암 세포주 배양을 위해 필요한 RPMI1640 medium, fetal bovine serum(FBS) 및 penicillin-streptomycin 등은 Gibco-BRL(Grand Island NY, USA)에서 구입하였고, 암세포의 세포독성 효과를 실험하기 위한 시약으로 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)는 Sigma Chemical Co.(St Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며, LDH(Lactate dehydrogenase) release assay kit는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)로부터 구입하였다. 그 외의 연구에 사용된 여러 가지 용매 및 시약은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

**추출물 및 분획물 제조.** 만형자 10 g에 methanol, ethanol, acetone 용매를 각각 100 ml씩 가하여 상온에서 3일 동안 정치시켜 추출 한 후, 여과지(5C. 110 mm, Advantec, Tokyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)로 여과하였다. 여과된 추출여액은 회전감압농축기(EYELA N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 40°C에서 감압 농축하여 각 용매 추출물을 얻었다. Acetone 추출물에서 다음 단계의 분획물을 얻기 위하여 용매의 극성을 달리하여 순차적으로 용매분획을 얻었다. 즉, *n*-hexane과 물을 같은 비율로 분획 추출하여 *n*-hexane층을 분리하였고, 동일한 방법으로 diethyl ether, ethyl acetate 및 water 층으로 분획하여 얻어진 각각의 용매 분획물을 감압 농축시켜 분획물을 얻었다. 각 추출물 및 분획물은 5 mg/ml로 DMSO (dimethyl sulfoxide)에 녹여 적당한 농도로 희석하였고, 1% DMSO가 되도록 처리하였다.

**암세포 배양.** 만형자의 세포독성을 실험하기 위해 한국세포주은행(KCLB, Seoul)으로부터 인간 대장암 유래의 세포주 HT-29와 SW620을 분양받아 본 실험에 사용하였다. 세포배양을 위해 RPMI1640 medium에 10% fetal bovine serum(FBS) 및 100 unit/ml의 penicillin, 100 µg/ml의 streptomycin을 첨가하여 사용하였고, 95%의 습도가 유지되는 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator (MOC-18AIC, SANYO, Osaka, Japan)에서 배양하였다.

**암세포의 형태학적 변화 관찰.** 만형자 각 용매 추출물에 대한 HT-29 세포주의 형태학적인 변화를 관찰하기 위해 6 well plate에 2 × 10<sup>5</sup> cells/well로 2 ml씩 첨가하여 24시간 동안 배양하고, 50 µg/ml의 농도로 추출물을 24시간 처리한 후, phase-contrast microscope(Nikon, Japan)를 이용하여 변화된 HT-29 세포주의 형태학적 특징을 촬영하였다.

**MTT 분석을 통한 세포 생존율 측정.** 만형자 추출물 및 분

획물의 세포독성을 측정하기 위하여 MTT reduction assay를 실시하였다. 세포주를 1 × 10<sup>5</sup> cells/ml로 맞추고 96 well plate에 각각 100 µl씩 첨가하여 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한 후, 각 용매별 추출물 및 분획물을 각각 10, 25, 50 µg/ml의 농도로 제조하여 암 세포주에 처리하였다. 24시간 동안 배양한 후, 각 well에 PBS 완충액에 녹인 MTT(5 mg/ml) 용액을 10 µl씩 첨가하여 다시 1시간 동안 배양 시킨다. Formazan 형성을 확인한 후, 배지를 완전히 제거하고, well 바닥에 형성된 formazan을 녹이기 위해 100 µl의 DMSO를 첨가한 후, ELISA reader (Model 680, BioRad, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 만형자 추출물을 처리하지 않고 배양시킨 대조군 세포를 100%로 하였을 때의 상대적인 세포성장 억제율로 나타내었다.

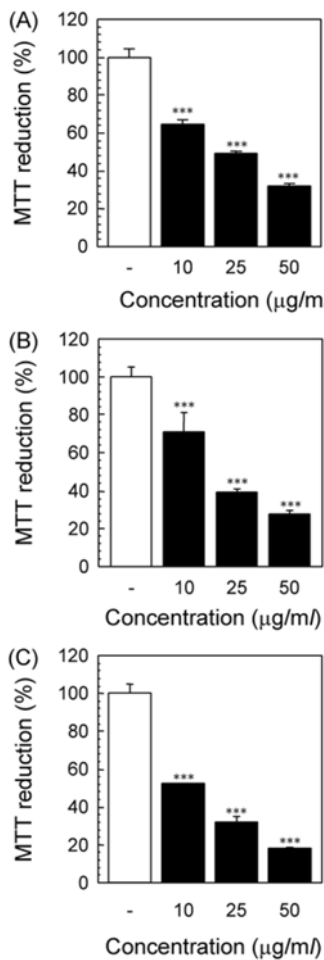
**LDH 측정에 의한 세포독성 확인.** 만형자 분획 추출물의 세포독성을 측정하기 위한 방법으로 LDH release assay를 실시하였다. SW620 세포주를 1 × 10<sup>5</sup> cells/ml로 맞춘 후, 100 µl씩 96-well plate에 분주하여 CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양한 뒤, 10, 25, 50 µg/ml의 농도로 제조한 만형자 분획 추출물을 세포주에 처리하였다. 다시 24시간 동안 배양한 후, 배양액을 새로운 96-well plate에 50 µl 분주하고, 이 배양액에 LDH reagent를 50 µl씩 첨가하여 상온에서 정치시킨 후, 20분간 반응하였다. 반응이 완료되면 stop solution인 1 N HCl을 100 µl씩 첨가하여 반응을 중지시킨 후, ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 살아남은 세포의 LDH 측정을 위해 배양액을 제거한 후, 0.5% Triton X-100용액을 50 µl 첨가하여 10분 동안 shaking시켜 세포벽을 깨트린 다음, 같은 방법으로 LDH reagent 50 µl를 첨가하여 반응 시키고, 반응이 끝나면 반응 정지액을 넣은 뒤, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. LDH에 대한 세포독성의 백분율은 배양액과 살아있는 세포에서 유리된 총 LDH에 대한 배양액으로부터 유리된 LDH의 값으로 계산하여 무처리 대조군과 비교한 값을 나타내었다.

**Hoechst 33342 staining.** 6-well plate에 2 × 10<sup>5</sup> cells/well로 24시간 동안 배양하여 만형자 각 용매별 추출물 50 µg/ml 농도로 처리한 후, PBS 완충액으로 2회 세척하고 10% formalin을 처리하여 4시간 고정한 후 다시 PBS로 세척하고 Hoechst 33342(Sigma, MO, USA)로 30분 동안 염색하였다. 염색 후 PBS로 세척하고 형광 현미경 하에서 400배로 관찰하였다.

**통계처리.** 모든 자료의 처리는 SPSS-PC+ 통계 package를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치±표준편차(SD)를 구하고 각 추출물의 세포독성 정도를 비교하기 위해 one-way 분산분석(ANOVA)을 시행하여 F값을 구하고 Scheffe's test를 이용하여 대조군과 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다. 통계적 유의성은 5% 수준에서 평가하였다.

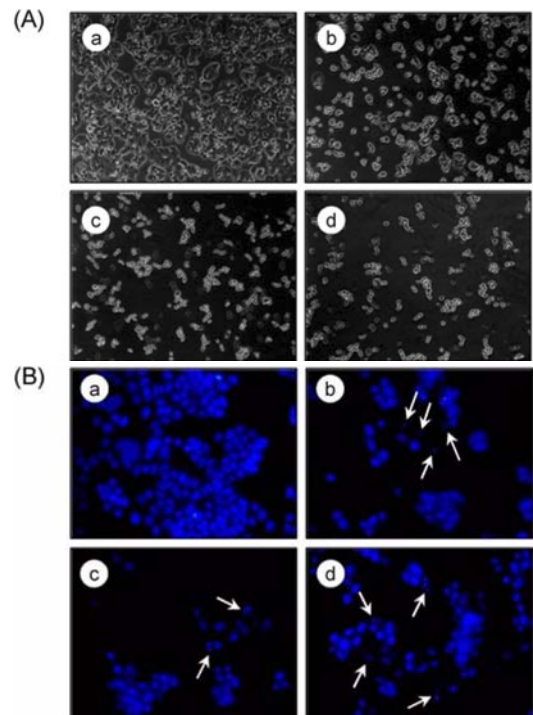
## 결과 및 고찰

**만형자 추출물의 암세포 성장 억제 효과.** 대장암 유래의 세포주인 HT-29에 대한 만형자 추출물의 세포독성 확인 결과는 다음과 같다. 각 용매별 만형자 추출물을 10, 25, 50 µg/ml의 농도로 HT-29 세포주에 처리하고 MTT reduction assay 방법을



**Fig. 1.** Cytotoxic effect of extracts from *Vitex rotundifolia* on HT-29 human colon carcinoma cells. The cells were treated with various concentrations (10, 25, 50 µg/ml) of each extracts of *V. rotundifolia* (A: methanol extract, B: ethanol extract, C: acetone extract). After MTT assay, the MTT reduction rate (means ± S.D. of triplicate determination) were calculated by setting each of control survivals in the absence of *V. rotundifolia* extracts. \*\*\*significant vs. control untreated cells ( $p < 0.001$ ).

통하여 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 암세포 성장 억제효과를 확인하였다(Fig. 1). Methanol과 ethanol 추출물을 10 µg/ml의 농도로 처리했을 때 각각 64.7%, 70.8%로 약한 활성을 보였지만, 50 µg/ml로 처리했을 때에는 각각 31.9%, 27.7%로 급격히 활성이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 그러나 acetone 추출물의 경우 10 µg/ml 농도에서 52.2% 생존율을 보였으며 50 µg/ml 농도에서는 18%로 가장 강한 암세포 성장 억제 효과를 보였다. 다음으로 HT-29 세포주에 대한 형태학적 변화를 알아보기 위하여 위상차 현미경을 이용하여 관찰한 결과, 대조군은 암세포가 조밀하고, 정상적으로 성장하는데 반해 각각의 추출물을 50 µg/ml 농도로 처리한 세포는 전체적인 세포의 수가 적을 뿐만 아니라 그 형태가 응축되어 있고, 불규칙적인 형태를 가지면서 세포사멸이 나타난 것을 알 수 있었다. 그 중 acetone 추출물을 처리한 세포에서는 더 많은 세포사멸이 일어난 것으로 보아 MTT reduction assay 결과와 동일한 것으로 확인 할 수 있었다(Fig. 2A). 또한 apoptosis의 형태학적 특



**Fig. 2.** Analysis of morphological change and apoptotic body of *V. rotundifolia* extracts on HT-29 cells. (A) Cells were exposed to *V. rotundifolia* extracts (50 µg/ml) for 24 h (a: control, b: methanol extract, c: ethanol extract, d: acetone extract). Photographs were taken with a phase-contrast microscope at 100× magnification. (B) The cells were exposed to *V. rotundifolia* extracts (50 µg/ml) for 24 h. Fixed cells were stained with Hoechst 33342 (10 µM) and examined by fluorescence microscope (Magnification ×400, a: control, b: methanol extract, c: ethanol extract, d: acetone extract).

징 중의 하나인 핵의 변화를 관찰하기 위해서 핵 내 DNA에 특이적으로 결합하는 형광 염색제인 Hoechst 33342를 사용하여 핵을 염색하고 형광 현미경으로 관찰하였다(Fig. 2B). 그 결과 대조군은 타원형의 온전한 핵 모양을 나타낸 반면 methanol, ethanol, acetone 추출물 50 µg/ml을 처리한 경우에 apoptotic body가 핵 주변에 나타나 HT-29 세포주의 사멸에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

**만형자 분획물의 암세포 성장 억제 효과.** 만형자 용매별 추출물 중 가장 강력한 항암 활성을 가지는 acetone 추출물이 이용하여 극성도에 따라 *n*-hexane, diethyl ether, ethyl acetate 및 water 순서로 용매 분획하여 그 분획물을 얻었다(Fig. 3). 각 용매별 분획물의 암세포 성장 억제효과에 대한 결과는 Fig. 4와 같다. HT-29 세포주에 각 분획물을 10, 25, 50 µg/ml의 농도로 처리하였을 때, 여러 용매 분획물 중 *n*-hexane 분획물에서의 효과가 가장 높았다. 즉, *n*-hexane 분획물 50 µg/ml을 처리했을 때 27.3%의 암세포 생존율을 보였고, diethyl ether 분획물에서도 50 µg/ml 농도 처리 시 32.9%로 활성이 증가하였으나 *n*-hexane 분획물과 비교하였을 때 상대적으로 효과가 낮음을 알 수 있었다. Ethyl acetate에서는 다른 분획물과 비교하였을 때 미약한 활성이 보였고, water 층에서는 거의 활성이 보이지 않았다. 이상의 결과로부터 만형자 추출물의 비극성 성질을 가진 물질들이 대장암 세포주에 대한 세포독성 효과를 나타내고 있

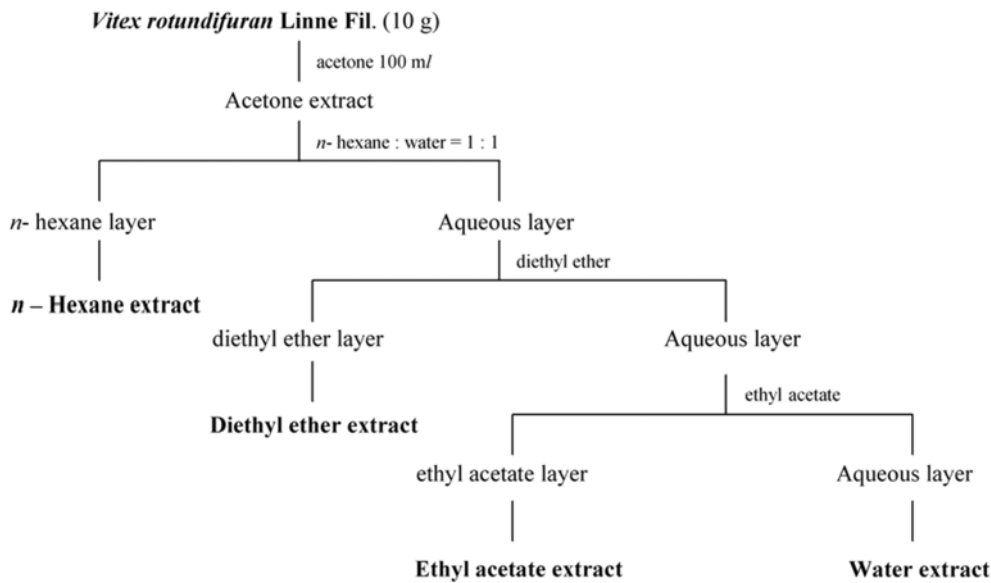


Fig. 3. Fractionation procedure of acetone extracts from *V. rotundifolia*. The extract was fractionated in sequence with *n*-hexane, diethyl ether, ethyl acetate, and aqueous layer according to degree of polarity.

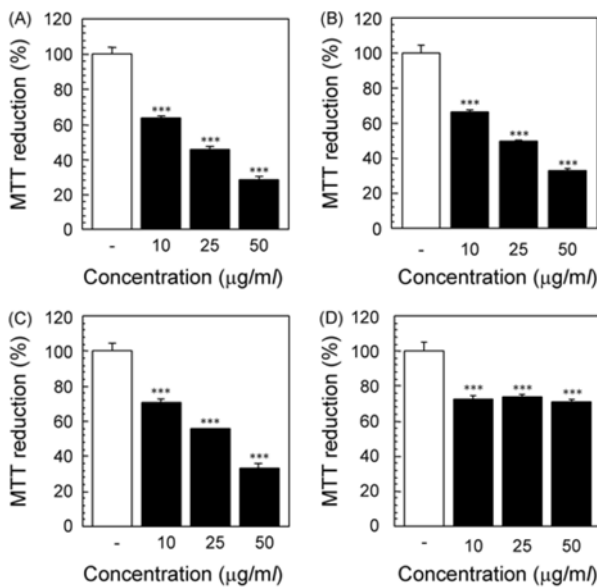


Fig. 4. Cytotoxic effect of the each fraction of acetone extracts from *V. rotundifolia* on HT-29 cells. A: *n*-hexane layer, B: diethyl ether layer, C: ethyl acetate layer, D: water layer. After MTT assay, the MTT reduction rate (means  $\pm$  S.D. of triplicate determination) were calculated by setting each of control survivals in the absence of extracts. \*\*\*significant vs. control untreated cells ( $p < 0.001$ ).

다는 것을 시사하고 있었다.

활성분획물의 다른 대장암 세포주에 대한 암세포 증식 억제 효과. HT-29 세포주에 대한 높은 세포독성을 보인 *n*-hexane 분획물이 다른 종류의 암세포에서도 이와 같은 암세포 성장억제능을 나타내는지 확인하기 위하여 HT-29 세포주와는 다른 인간 유래의 대장암 세포주 SW620 세포주를 이용하여 다음과 같은 실험을 하였다. Fig. 5A와 같이 MTT reduction assay를 통하여 *n*-hexane 분획물을 10, 25, 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도로 처리한 후 세포독성 확인한 결과, 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 7.1%로 강력한 세포독성

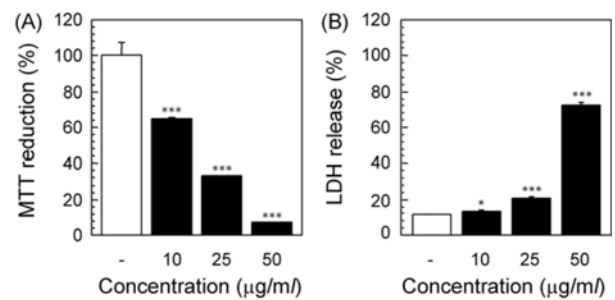


Fig. 5. Cytotoxic effect of *n*-hexane fraction on SW620 human colon carcinoma cells. The cells were treated with various concentrations (10, 25, 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) of *n*-hexane fraction (A: MTT reduction assay, B: LDH release assay). After MTT assay, the MTT reduction rate (means  $\pm$  S.D. of triplicate determination) were calculated by setting each of control survivals in the absence of *n*-hexane fraction. Data were normalized to the activity of LDH release from vehicle-treated cells (100%) and expressed as percentage of the control (obtained separate plating). \*:  $p < 0.05$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ .

을 가지는 것을 알 수 있었다. 또한 LDH release assay를 통하여 세포독성을 확인한 결과 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 높은 세포독성을 보임을 알 수 있었다(Fig. 5B).

### 초 록

본 연구는 만형자(*Vitex rotundifolia*)의 세포독성을 확인하기 위한 목적으로 methanol, ethanol, acetone으로 추출한 뒤, 인간 유래의 대장암 세포주인 HT-29에 처리하여 MTT reduction assay를 이용하여 실험을 하였다. 그 결과, 모든 만형자 추출물에서 농도 의존적으로 성장 저해 효과가 나타났으며, 그 중에서도 acetone 추출물을 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도로 처리 시 18%로 가장 높은 항암 효과를 보였다. 또한 각 용매별 추출물을 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 처리하여 HT-29 세포주의 성장을 관찰한 결과, acetone 추

출물은 대조구에 비하여 암세포의 수축 등 형태변화가 두드러지게 나타났으며, Hoechst 33342 staining을 통하여 apoptotic body가 형성된 것을 확인 하였다. 그리고 가장 활성이 좋은 acetone 추출물을 용매 분획하여 얻은 분획물 중, *n*-hexane 분획물에서 농도 의존적으로 세포독성을 나타냄을 알 수 있었다. 또한 만형자의 *n*-hexane 분획물은 다른 대장암 세포주 SW620에 대해서도 50 µg/ml 농도에서 대조군에 비하여 7배 정도의 높은 세포독성을 나타내고 있음을 MTT reduction assay와 LDH release assay를 통하여 확인 할 수 있었다.

**Key words:** *Vitex rotundifolia*, cytotoxic activity, MTT reduction assay, HT-29 cells, SW620 cells

### 감사의 글

본 연구는 2007학년도 경남대학교 학술논문게재연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Rho, S. N. and Han, J. H. (2000) Cytotoxicity of garlic and onion methanol extract on human lung cancer cell lines. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 870-874.
- Doll, R. and Peto, R. (1981) The causes of cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **66**, 1191-1308.
- Cha, J. Y., Jeon, B. S., Moon, J. C., Yoo, J. H. and Cho, Y. S. (2004) Cytotoxic effect of *Inonotus obliquus* composition in HCT-15 human colon cancer cells and AGS gastric cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 633-640.
- Shim, S. M., Kim, M. and Bae, S. J. (2001) Cytotoxicity and quinone reductase induced effects of *Daucus carota* L. leaf extracts on human cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 86-91.
- Ham, S. S., Cui, C. B., Choi, H. T. and Lee, D. S. (2004) Antimutagenic and cytotoxic effects of *Allium victorialis* extracts. *Korean J. Food Preserv.* **11**, 221-226.
- Chung, Y. J., Bae, M. W., Chung, M. I., Lee, J. S. and Chung, K. S. (2002) Cytotoxic effect of the distilled pine-needle extracts on several cancer cell lines *in vitro*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 691-695.
- Cha, M. R., Yoon, M. Y., Kim, J. Y., Hwang, J. H. and Park, H. R. (2006) The cytotoxic effect of the gleditsiae semen extracts on human colon carcinoma cells. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **49**, 248-253.
- Kim, K. H., Park, H. Y., Nam, J. H., Park, J. E., Kim, J. Y., Park, M. I., Chung, K. O., Park, K. Y. and Koo, J. Y. (2005) The inhibitory effect of curcumin on the growth of human colon cancer cells (HT-29, WiDr) *in vitro*. *Korea J. Gastroenterol.* **45**, 277-284.
- Han, D. S., Oh, S. K. and Oh, E. S. (2003) Selective cytotoxicities of phenolic acids in cancer cells. *J. Toxicol. Pub. Health.* **19**, 45-50.
- Kim, H. J., Lee, I. S. and Lee, K. R. (1999) Antimutagenic and anticancer effects of *Ramaria botrytis* (Fr.) Rick extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1321-1325.
- Seng, S. S., Kim, E. J., Jung, S. W., Choi, K. P., Zhao, J. L. and Hwang, B. H. (1996) The antimutagenic and anticancer effect of *Taxus cuspidata* extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **12**, 1062-1068.
- Goodman, G. E., Yen, P. Y., Cox, C. T. and Crowley, J. (1987) Effect of verapamil *in vitro* cytotoxicity and vinblastine in human tumor cell. *Cancer Res.* **47**, 2295-2304.
- Einhorn, L. H. and Willinams, S. D. (1980) Chemotherapy of disseminated testicular cancer. *Cancer* **46**, 1339-1344.
- Kim, W. S., Lee, R. A., Hwang, D. Y., Hong, Y. J. and Hong, S. I. (2004) Histoculture drug response assay in colorectal cancer specimen. *J. Korean Surgical Society* **66**, 109-115.
- Tucker, J. M., Davis, C., Kitchens, M. E., Bunni, M. A., Priest, D. G., Spencer, H. T. and Berger, F. G. (2002) Response to 5-fluorouracil chemotherapy is modified by dietary folic acid deficiency in *Apc<sup>Min/+</sup>* mice. *Cancer Lett.* **187**, 153-162.
- Ramming, K. P. and Haskell, C. M. (1985) *In Haskell CM (ed) Cancer treatment, (2nd ed.): Colorectal malignancies*, Philadelphia.
- Choi, H. R., Lee, K. H. and Kim, C. H. (2003) Radiosensitizing and antitumor effect of the seed of *Benincasa hispida*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**, 479-482.
- Kim, H. S., Hong, S. B., Sung, H. J., Moon, G. A. and Yoon, Y. (2003) Effect of deer blood on reduction of the side effects of chemotherapeutic drugs. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**, 145-149.
- Grigsby, P. W. (2002) Update on radiation therapy for endometrial cancer. *Oncology* **16**, 777-786.
- Park, R. K., Oh, K. R., Lee, K. G., Mun, Y. J., Kim, J. H. and Woo, W. H. (2001) The water extract of *Boswellia carterii* induces apoptosis in human leukemia HL-60 cells. *Yakhak Hoeji* **45**, 161-168.
- Oh, H. S., Cui, C. B., Choi, H. T., Kim, S. H., Jeon, M. S. and Ham, S. S. (2004) Antimutagenic and cytotoxic effects of *Acer ginnala* Max. bark extracts. *Korean J. Food Preser.* **11**, 550-556.
- Kim, Y. M., Do, J. R., Kim, D. S. and Park, J. H. (2006) Cytotoxicities of hydrolyzed crude laminaran from *Eisenia bicyclis* on the SNU-1, HeLa and SW cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 793-798.
- Jung, S. E. and Bae, J. H. (2002) The effect of *Prunus mume* extracts on the growth of Hepg 2 and HeLa cell lines. *Korean J. Food Nutr.* **35**, 439-445.
- Park, S. Y., Shin, M. O., Lee, S. H. and Bae, S. J. (2005) The growth inhibitory effects of *Atrina Pectinata* fractions on cancer cell lines. *Korean Nutr. Soc.* **38**, 307-312.
- Im, H. G., Yu, M. H., Chung, D. W. and Lee, I. S. (2006) Inhibitory effects of fungal metabolites isolated from foodstuffs on the growth of human cancer cell lines. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 262-267.
- Park, Y. J., Kim, M. H. and Bae, S. J. (2002) Enhancement of anticarcinogenic effect by combination of lucii fructus with vitamin C. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 143-148.
- Ko, S. T., Moon, Y. H. and Ko, O. H. (1976) Influence of *Vitiscis rotundifoliae* Fructus on the blood pressure of the rabbit. *Kor. J. Pharmacogn.* **7**, 263.
- Kang, S. S., Kim, J. S., Kim, H. J., Jung, Y. R. and Shin, S. W. (1994) Phytochemical analysis of *Vitiscis Fructus*. *Kor. J. Pharmacogn.* **25**, 214-220.

