

산수유 에탄올 추출물의 Sarcoma-180 세포에 대한 항암 효과

권승혁¹ · 권순재¹ · 김재용¹ · 강갑석² · 심기환³ · 이미경¹ · 서권일^{1*}

¹순천대학교 식품영양학과, ²부산정보대학 호텔조리학과

³경상대학교 대학원 응용생명과학부(농업생명과학연구원)

Antitumor Activity of Corni Fructus Ethanol Extract in Sarcoma-180 Cancer Cells

Seong-Hyuk Kwon¹, Soon-Jae Kwon¹, Jae-Yong Kim¹, Kap-Suk Kang²,
Ki-Hwan Shim³, Mi-Kyung Lee¹, and Kwon-Il Seo^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Jeonnam 540-742, Korea

²Dept. of Hotel Culinary Arts, Busan College of Information Technology, Busan 616-737, Korea

³Division of Applied Life Sciences, Graduate School (Institute of Agriculture & Life Sciences),
Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea

Abstract

To develop Corni Fructus as a cancer preventive food material, the *in vitro* cytotoxicities and *in vivo* antitumor activities of various concentrations of 80% Corni Fructus ethanol extract (CFEE) were investigated using sarcoma-180 cancer cell. Viability was decreased and cell death rate was increased in both dose- and time-dependent manners in cells treated with CFEE at 10, 100, 300, and 500 µg/mL concentrations for 24, 48, and 72 hr. Proliferation was also inhibited more than 60% in cells treated with CFEE at the 100 µg/mL concentration for 48 hr. In addition, the morphology of cells treated with CFEE at the 100 and 500 µg/mL concentrations was distorted with shrunken cell masses and lower cell numbers compared to the control cells. In the cells treated with CFEE, the formation of apoptotic bodies and nuclear condensation were observed in dose dependent manners. CFEE also increased DNA fragmentation values at the 100 and 500 µg/mL concentrations. The apoptosis induced by CFEE was connected to the proteolytic activation of caspase-3. When CFEE was administered at 100 and 300 mg/kg, ip, for 7 consecutive days in mice inoculated with sarcoma-180 cancer cell, the life span of the mice was found to be longer than that of the control mice that did not receive the extract. These results suggest that Corni Fructus may be used as a potential cancer preventive food material.

Key words: Corni Fructus, apoptosis, antitumor activity, sarcoma-180

서 론

최근 우리나라는 생활수준의 향상 및 의료기술의 발달로 인해 과거에 많이 발생되었던 전염병과 같은 세균성 질병의 발병률은 감소하고 있는 반면, 식생활 및 환경 등 후천적 원인으로 인한 질병들의 발병률이 점차 증가하고 있는 추세이다(1). 특히 2007년 기준 전체 인구 사망원인 통계 결과 암에 의한 사망률은 인구 10만 명당 137.5명으로 전체 사망원인 1위를 차지하였다(2). 기존의 암에 대한 치료방법으로는 항암제가 많이 사용되고 있으나 다양한 부작용들이 나타나므로 최근에는 인체에 안전성이 입증된 천연물로부터 항암물질을 검색하는 연구가 많이 진행되고 있다(1).

산수유(Corni Fructus)는 층층나무과에 속하는 산수유나무(*Cornus officinalis*)의 과육으로, 가을에 성숙한 붉은색 열

매의 씨를 제거한 건조한 과육을 산수유라 한다(3). 예로부터 산수유는 우리나라를 비롯하여 중국과 일본 등에서 중요한 한약재로 많이 사용되어져 왔다(4). 산수유는 그 맛이 시고 성질은 따뜻하며, 다뇨증, 요통, 이명, 폐결핵 등의 치료제로 사용되어 왔으며, 그 과실은 자양, 강장, 음위, 이조에 약효가 있고, 간경화, 신경에 좋고, 이뇨작용, 혈압강하작용, 항암 및 항균작용 등의 약리작용이 있다고 한방자료에 기록되어 있다(5). 산수유의 주요 화학 성분은 gallic acid, malic acid, tartaric acid, ursolic acid, morroniside, loganin, sweroside 등과 같은 배당체, tellimagrandin 1,2, 1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose, 1,2,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose, 1,2,3,6-tetra-O-galloyl-β-D-glucose, gemin D, 탄닌 성분으로 cornusinin A-G, 2,3-di-O-galloyl-D-glucose, 1,7-di-O-galloyl-D-sedoheptulose 등이 보고되고 있다(6,7). 또한 산

*Corresponding author. E-mail: seoki@sunchon.ac.kr
Phone: 82-61-750-3655, Fax: 82-61-752-3657

수유의 주요 생리활성에 대한 연구로는 산수유 종자의 항당뇨 효과(8), 물 추출물의 항히스타민 효과(9), 부종억제효과(10), 납에 의한 조직손상 억제(11), 정자 운동성 증가에 미치는 효과(12), 항균효과(13), 티로시나제 저해작용(14) 및 항산화 효과(15,16) 등이 보고되고 있으나, 항암효과에 관한 연구는 세포 독성 효과(17)에 관한 연구들만 진행되고 있을 뿐 체계적인 연구가 미흡한 실정이다.

현재 실험적 이식종양모델로 sarcoma-180 암세포가 주로 사용되고 있다. 이 세포는 1914년 미국의 Croker 연구소에서 Zuckerberg(18)가 처음으로 발견하였으며, 마우스의 액와 부위에서 자연 발생된 종양으로서 복수암으로 전환시켜 종양연구에 많이 사용하고 있다(19). 앞으로 산수유를 암 예방 소재로 활용하기 위해서는 더욱 많은 항암효과에 관한 연구들이 진행되어야 할 것이다.

따라서 본 연구에서는 산수유 에탄올 추출물의 sarcoma-180 암세포의 증식 억제 및 수명연장효과를 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출물 제조

본 실험에 사용된 산수유는 2007년 10월에 전남 구례군 산동면에서 수확한 후 씨를 제거한 건조과실을 구입하여 본 실험에 사용하였다. 산수유 에탄올 추출물은 전보(20)와 동일한 방법으로 추출하였다. 즉 산수유 10 g 당 80% 에탄올을 200 mL 비율로 첨가하여 65°C에서 3시간씩 3회 환류 추출한 후 여과하였다. 여과액을 회전감압농축기(Eyela, Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축한 후 동결 건조하였다.

실험동물

실험에 사용한 동물은 ICR mice(Damool Science, Daejeon, Korea)로 3주령의 체중 13~16 g인 개체를 사용하였으며 실험동물용 펠릿사료(Damool Science)로 사육하였고 동물 실험실 온도는 23±2°C, 습도 50±5%를 유지하였으며 12시간 간격의 light-dark cycle을 유지하였다. 물은 자유롭게 섭취시켰으며 실험군에 따라 8마리씩 1군으로 분류하여 사용하였다.

암세포 배양 및 증식 억제능 측정

본 실험에 사용한 sarcoma-180 암세포는 한국세포주은행(KCLB)로부터 분양받아 RPMI 1640 배지(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator (HERA cell 150, Heraeus, Hanau, Germany)에서 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

암세포의 증식 억제능은 sarcoma-180 암세포를 유리피펫(10 mL)으로 single cell로 만든 후 RPMI 1640 배지로 최종농도가 1×10⁵ cells/mL가 되도록 희석하여 24 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 24시간 이후에 각 well의 배양액을 제거한 후 산수유 에탄올 추출물(CFEE, 80% Corni Fructus ethanol

extract)을 10, 100, 300 및 500 µg/mL 첨가하여 24, 48 및 72시간 동안 배양하고 암세포 증식을 혈구 계산판을 이용하여 세포를 counting 하였다(21).

암세포의 형태학적 관찰

Sarcoma-180 암세포에 산수유 에탄올 추출물을 10, 100, 300 및 500 µg/mL 농도로 처리하여 48시간 반응시킨 후 위상차 현미경(LP-1, Leica, Wetzlar, Germany)을 이용하여 대조군과 시료처리군의 형태학적 변화를 비교 관찰하였다.

핵의 형태변화 관찰

Sarcoma-180 암세포 최종농도가 1×10⁶ cells/mL가 되도록 희석하여 6 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 24시간 이후 각 well의 배양액을 제거한 후 10, 100, 300 및 500 µg/mL의 농도로 well에 처리하여 48시간 더 배양시켰다. 배양이 종료된 well에서 회수한 암세포를 PBS로 3회 세척하고 2 µg/mL Hoechst (bis-benzimide)를 첨가하여 실온에서 20분 동안 염색한 후 다시 PBS(phosphate buffered saline)로 세척하고 형광현미경으로 암세포를 관찰하였다(22).

DNA fragmentation 분석

산수유 에탄올 추출물을 처리한 sarcoma-180 암세포에서 apoptosis가 진행될 때 암세포에서 나타나는 DNA의 분절화를 정량적으로 분석하기 위해 Cell death detection ELISA^{plus} kit(Roche, Mannheim, Germany)를 이용하였다. Sarcoma-180 암세포 최종농도가 1×10⁶ cells/mL가 되도록 희석하여 6 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 산수유 에탄올 추출물을 300, 500 µg/mL 첨가하여 48시간 동안 배양하였다. 암세포를 수거하여 용해 완충액(lysis buffer)을 첨가하여 30분간 실온에서 암세포를 용해시킨 후, 원심분리(1200 rpm, 5 min, 4°C)하여 상층액을 얻었다. 100 µL의 coating solution(biotinylated antihistone)을 96 well plate에 분주하여 흡착시킨 후에 100 µL의 용해시킨 상층액과 peroxidase-coupled anti-DNA antibodies를 차례로 첨가하여 실온에서 90분간 반응시켰다. 반응이 끝난 각 well에 200 µL의 washing solution을 분주하여 3회 세척하고, 100 µL의 ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-sulfonate)] 기질을 첨가하여 20분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 파장 405 nm에서 흡광도를 측정하였다(23).

Caspase-3 활성 측정

Caspase-3의 활성은 Colorimetric assay kit(BioVison, CA, USA)로 제조사의 방법에 따라 측정하였다. 즉, monolayer로 배양한 sarcoma-180 암세포를 0.25% trypsin-EDTA 용액 1 mL을 처리하여 single cell로 만든 후 배양액으로 최종농도가 2×10⁶ cells/mL가 되도록 희석하여 10 cm dish에 분주한 다음 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후

산수유 에탄올 추출물을 10, 100 및 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 첨가하여 48시간 동안 배양하였다. 반응이 종료된 dish에서 회수한 암세포를 PBS로 3회 세척 후 상등액을 제거한 암세포에 50 μL lysis buffer를 첨가하여 용해하고, caspase-3(DEVDPNA)와 함께 37°C에서 2시간 간격으로 incubation 한 후 microplate reader로 405 nm에서 흡광도를 측정하여 활성정도를 확인하였다(24).

Sarcoma-180 암세포를 이용한 수명연장효과

실험동물의 복강 내에서 7~10일간 배양된 sarcoma-180 암세포를 복강에 RPMI1640 배지를 투여하고 복수와 함께 취하여 원심분리(1200 rpm, 5 min, 4°C)하여 암세포를 분리하였다. 분리된 암세포에서 red blood cell lysis buffer를 10 mL 첨가하고 원심분리 하여 혈액을 제거한 다음 RPMI1640 배지 10 mL로 부유시켜 재차 원심분리 하여 상등액을 제거하였다. 최종 농도가 2×10^6 cells/mL이 되도록 암세포 부유액을 만들어 200 μL 씩을 복강에 주사하여 복수암을 유발하였다. 마우스 수명 연장 효과는 실험동물의 복강 내에 암세포를 주사하고 24시간이 경과한 후부터 7일간 연속적으로 대조군은 증류수를, 실험군은 산수유 에탄올 추출물을 100 및 200 mg/kg/body 농도로 200 μL 씩을 복강에 주사한 후 30일간 생존여부를 관찰하였다.

통계처리

실험결과는 3반복에 대한 평균 및 표준편차로 표시하였으며, 각 실험군을 대조군에 대한 백분율에 나타내었다. 각 군간의 통계적 유의성에 대한 검증은 Student's *t*-test를 이용하여, *p*-value가 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판단하였다.

결과 및 고찰

산수유 에탄올 추출물의 암세포 증식에 대한 억제효과

산수유 에탄올 추출물의 sarcoma-180 암세포증식 억제 여부 검토를 위하여 산수유 에탄올 추출물을 sarcoma-180 암세포에 10, 100, 300 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하여 24, 48 및 72시간 배양시킨 후에 trypan blue assay를 이용하여 측정된 결과 농도 의존적으로 암세포증식을 억제하였으며, 특히 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 48시간 배양 시 60% 이상의 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다(Fig. 1). 또한 산수유 에탄올 추출물의 첨가 농도에 따른 sarcoma-180 암세포의 형태학적 변화를 확인하기 위해 10, 100, 300 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 산수유 에탄올 추출물을 처리하여 48시간 반응 후 각 농도별 형태학적 변화를 위상차 현미경으로 관찰하였다(Fig. 2). 무처리군의 암세포의 경우 well plate에 농도 안정적으로 부착되어 정상적인 증식이 이루어진 모습인 반면, 산수유 에탄올 추출물을 처리한 군은 농도 의존적으로 암세포의 증식이 감소하였으며, well plate로부터 분리되어 배양액에 부유한 모

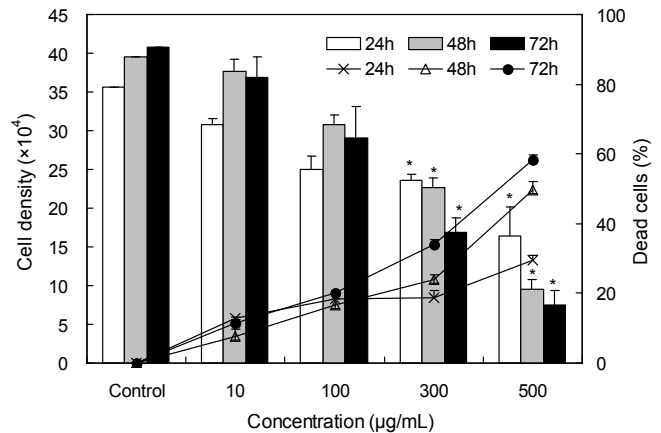


Fig. 1. Cell growth inhibition effects by trypan blue dye in sarcoma-180 cancer cells treated with CFEE for 24, 48, and 72 hr. Results were expressed as a percentage of control. The bars and lines are the means of cell density and cell death, respectively. Data values were expressed as mean \pm SD of triplicate determinations. Significant differences were compound with the control at $*p < 0.05$ by Student *t*-test. CFEE: 80% Corni Fructus ethanol extract.

습들이 관찰되었다.

Jeon 등(25)은 산수유 에탄올 추출물에 폴리페놀 및 플라보노이드 성분이 함유되어 있어 700 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 농도에서 인체 간암세포와 자궁경부암 세포의 증식을 78% 이상 억제하였다고 보고하였다. 한편 Kim 등(26)은 산수유로부터 분리한 ursolic acid를 인체 폐암세포 및 유방암세포에 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리한 결과 이들 암세포 증식을 90% 이상 억제하였다고 보고한 바 있다. 본 실험에서 산수유 에탄올 추출물의 높은 암세포 증식억제효과는 산수유 에탄올 추출물에 함유되어 있는 다양한 생리활성물질들과 연관성이 있다고 본다.

산수유 에탄올 추출물의 apoptosis 유도 효과

산수유 에탄올 추출물의 암세포 사멸효과가 apoptosis에 의해 유도되는 지를 검토하기 위하여 hoechst 염색을 이용한 핵의 형태변화 및 DNA 절편을 관찰하였다. 산수유 에탄올 추출물을 10, 100, 300 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리하여 24시간 동안 배양한 후 핵의 형태학적 변화를 관찰한 결과, Fig. 3과 같았다. 즉 대조군 암세포의 핵은 손상 없이 일정한 반면, 산수유 에탄올 추출물을 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상 농도로 처리하였을 때 핵이 손상되어 절편 되었으며, apoptosis의 특징 중 하나인 apoptotic bodies를 관찰할 수 있었다. 즉 sarcoma-180 암세포에 산수유 에탄올 추출물을 300 및 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하였을 때, 각각 흡광도 값이 2.61, 2.78로 대조군의 1.28에 비해 높게 나타나는 것을 미루어 보아 sarcoma-180 암세포에 산수유 에탄올 추출물을 처리하였을 때 DNA 분절화에 따른 apoptosis가 일어남을 알 수 있었다(Fig. 4).

Zhang 등(27)의 연구에 따르면 산수유의 주요 항암물질로 알려진 ursolic acid를 인체 전립선암 세포인 DU 145에 50 μM 의 농도로 72시간 처리하였을 때 핵이 수축되고 응축되어 분절화가 유도되었다고 보고하였으며, Meng 등(28)은

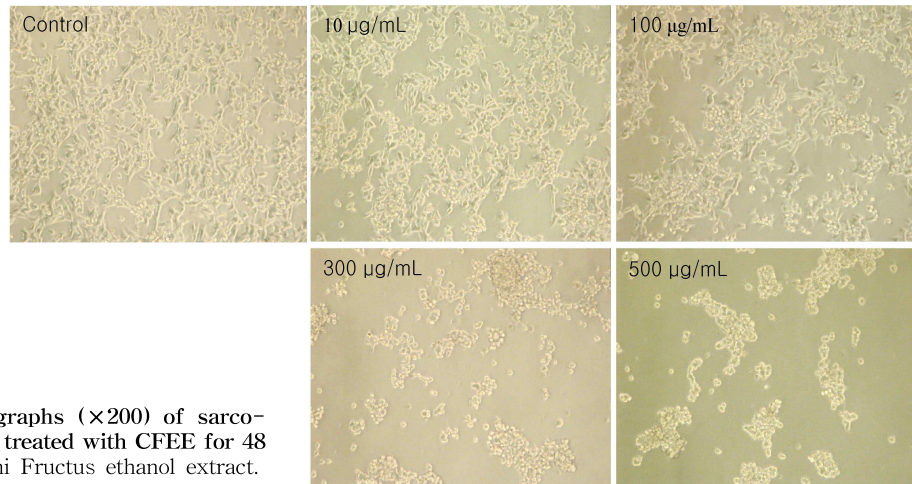


Fig. 2. Photomicrographs ($\times 200$) of sarcoma-180 cancer cells treated with CFEE for 48 hr. CFEE: 80% Corni Fructus ethanol extract.

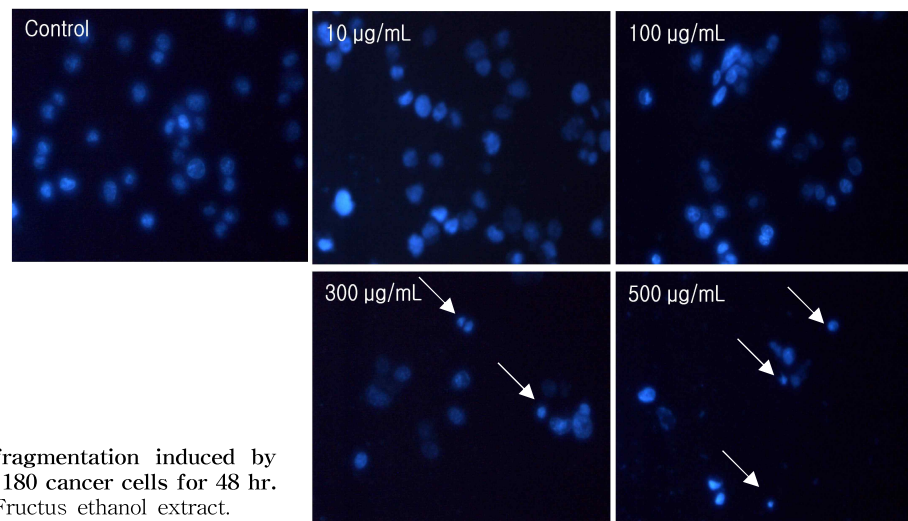


Fig. 3. Nuclear fragmentation induced by CFEE in sarcoma-180 cancer cells for 48 hr. CFEE: 80% Corni Fructus ethanol extract.

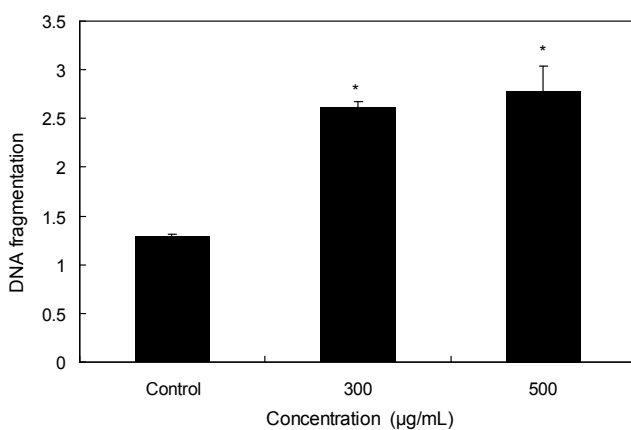


Fig. 4. DNA fragmentation in sarcoma-180 cancer cells by treated with CFEE for 48 hr and then DNA fragmentation was measured by ELISA kit. CFEE: 80% Corni Fructus ethanol extract. Data values were expressed as mean \pm SD of triplicate determinations. Significant differences were compound with the control at $*p < 0.05$ by Student *t*-test.

산수유의 주요 항암물질로 잘 알려진 ursolic acid를 인체

자궁암 세포인 HeLa에 5 μ M의 농도로 처리하고 gel 전기영동을 통하여 DNA ladder를 관찰한 결과 분절이 나타난다고 보고하였다. 또한 본 연구진은 전보에서 산수유로부터 ursolic acid를 분리하여 이의 세포독성에 대하여 보고한 바 있다. 따라서 산수유 에탄올 추출물에 포함되어 있는 ursolic acid 등의 물질이 apoptosis에 의한 암세포의 사멸을 유도하는 것으로 생각된다.

Caspase-3 활성 측정

산수유 에탄올 추출물에 의한 sarcoma-180 암세포의 사멸이 caspase 활성에 의존하여 유도되는 지 검토하기 위하여 caspase-3 활성을 측정된 결과(Fig. 5), 농도 의존적으로 caspase-3 활성을 유도하였다. 즉 산수유 에탄올 추출물은 sarcoma-180 암세포의 사멸 기전을 caspase-3 활성에 의존하여 유도됨을 알 수 있었다.

산수유 에탄올 추출물의 sarcoma-180 수명연장효과

마우스의 sarcoma-180 암세포에 대한 항암효과를 측정

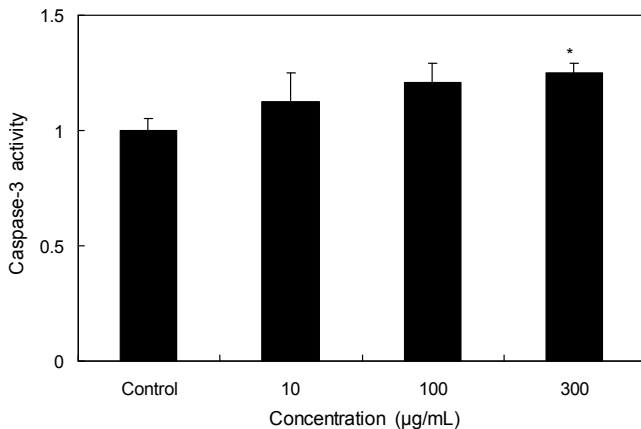


Fig. 5. Caspase-3 activity in sarcoma-180 cancer cells treated with CFEE. The caspase-3 activity was calculated by defining the activity of control as 1. CFEE: 80% Corni Fructus ethanol extract. Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compound with the control at * $p < 0.05$ by Student t -test.

Table 1. Effects of CFEE¹⁾ on survival times of sarcoma-180 cancer cells in mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Median survival time (days)	Increase survival time (%)
Control	-	20.3±2.33 ²⁾	-
Extracts from Corni Fructus	100	26.3±3.72*	29.3%
	200	28.3±4.08*	39.3%

¹⁾CFEE: 80% Corni Fructus ethanol extract.

²⁾Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations.

*Significant differences were compound with the control at $p < 0.05$ by Student t -test.

하기 위하여 mouse 복강에 sarcoma-180 암세포를 주입하여 복수암을 유발시키고, 24시간 후 산수유 에탄올 추출물을 100 및 200 mg/kg/day로 7일간 복강에 투여하여 30일 동안 생존율을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 즉 산수유 에탄올 추출물을 처리하지 않은 대조군은 20.3일에 모두 폐사하였으나, 산수유 에탄올 추출물을 100 및 300 mg/kg/day 농도로 처리한 군에서는 생존일수가 각각 26.3(29.3%) 및 28.3(39.3%)일로 농도 의존적인 마우스의 수명연장효과를 나타내었다.

본 연구 결과를 종합할 때, 산수유 에탄올 추출물은 *in vitro*와 *in vivo*에서 항암효과를 나타내었으며, 앞으로 이에 대한 좀 더 많은 연구가 진행된다면 산수유를 항암과 관련된 기능성식품 원료로 활용할 가능성이 있을 것으로 생각된다.

요 약

산수유를 항암 식품 소재로 활용하기 위하여 sarcoma-180 암세포에 대한 산수유 에탄올 추출물의 증식 억제 및 마우스에서의 수명 연장효과를 검토하였다. 산수유 에탄올 추출물을 10, 100, 300 및 500 µg/mL 농도로 24, 48 및 72시간

별로 sarcoma-180 암세포에 처리하여 암세포 증식억제 효과를 측정한 결과, 농도 및 시간 의존적으로 억제하였으며, 500 µg/mL 농도에서 48시간 배양 시 60% 이상의 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다. 산수유 에탄올 추출물을 100 µg/mL 농도 이상으로 처리한 암세포에서는 대조군의 증식이 감소되었으며, 형태학적 변화도 관찰되었다. 또한 산수유 에탄올 추출물은 농도 의존적으로 핵을 응축하고 apoptotic bodies를 생성하였으며, 300 및 500 µg/mL의 농도에서는 DNA fragmentation을 유도하였고 이러한 apoptosis 유도는 caspase-3 활성과 관련이 있었다. 산수유 에탄올 추출물을 sarcoma-180 암세포가 접종된 마우스 복강에 7일간 100 및 300 mg/kg/day의 농도로 연속적으로 투여하였을 때, 산수유 투여군의 수명이 대조군에 비하여 증가되었다. 따라서 이 결과를 종합하여 볼 때 산수유는 암 예방 기능성 소재로서 활용이 가능하리라 생각된다.

문 헌

- Park KH, Kim SY, Chae JH. 2007. Selection of oriental medicinal plants for screening of anticancer agents. *Korean J Biotechnol Bioeng* 22: 139-145.
- Korea National Statistical Office. 2008. Annual report on the cause of death statistics.
- Chung SR, Jeune KH, Park SY, Jang SJ. 1993. Toxicity and lectins constituents from the seed of *Cornus officinalis*. *Korean J Pharmacogn* 24: 177-182.
- Lee JY. 1981. Iridoid glycosides of *Cornus officinalis*. *MS Thesis*. Seoul National University, Seoul, Korea.
- Seo KI, Lee SW, Yang, KH. 1999. Antimicrobial and anti-oxidative activities of *Corni fructus* extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 99-103.
- Toheu E, Chiro TH. 1973. Constituents of *Cornus officinalis*. *Yakugaku Zasshi* 93: 30-36.
- Guilian T, Zhang T, Yang F, Ito Y. 2000. Separation of gallic acid from *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc by high-speed counter-current chromatography. *J Chromatogr A* 886: 309-312.
- Park YK, Whang WK, Kim HI. 1995. The antidiabetic effects of extracts from *Cornus officinalis* seed. *Chung-Ang J Pharm Sci* 9: 5-11.
- Seo YB, Kil GJ, Lee YK, Lee YC. 2002. Study on the effects of *Corni fructus* about the anti-allergic action. *Korean J Ori Med Physiol Pathol* 1: 1-17.
- Won DH, Cho JH, Kim HS, Ko JH, Lee J, Park SA, Lee HJ, Yook CS, Kim IH, Won BP. 1996. Studies on the analysis of *Corni fructus* and its preparation. *The Annual Report KFDA* 1: 197-201.
- Han SH, Shin MK, Lee SB. 2003. Effects of extracts of shanshuyu (*Cornus officinalis* Sieb). *Korean J Food Culture* 18: 544-550.
- Jeng H, Wu CM, Su SJ, Chang WC. 1997. A substance isolated from *Cornus officinalis* enhances the motility of human sperm. *Am J Chinese Med* 25: 301-306.
- Kim YD, Kim HK, Kim KJ. 2003. Antimicrobial activity of solvent fraction from *Cornus officinalis*. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 32: 829-832.
- Fukushima M, Kimura S. 1989. Studies on cosmetic ingredients from crude drugs (I). *Shoyakugaku Zasshi* 43:

- 142-147.
15. Kim YE, Lee YC, Kim HK, Kim CJ. 1997. Antioxidative effect of ethanol fraction for several Korean medicinal plant hot water extracts. *Korean J Food Nutr* 2: 141-144.
 16. Kim OK. 2005. Antidiabetic and antioxidative effects of *Corni fructus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Oil Chemists Soc* 2: 157-167.
 17. Park CS, Kim DH, Kim ML. 2008. Biological activities of extracts from *Corni fructus*, *Astragalus membranaceus* and *Glycyrrhiza uralensis*. *Korean J Herbology* 23: 93-101.
 18. Zuckerberg C. 1973. Ultrastructure of sarcoma 180. *Cancer Res* 10: 272-282.
 19. Sur SW. 1992. The experimental study of proliferating activity of transplanted sarcoma 180 into Gingiva. *MS Thesis*. Kyung Hee University, Seoul, Korea.
 20. Kwon SH, Kwon SJ, Kim JY, Park KW, Shim KH, Seo KI. 2009. Protective effect of *Corni fructus* ethanol extracts against environmental hormones in human prostate cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 663-666.
 21. Xu W, Chen J, Wang F, Chen Y, Zhao F. 2004. Arrested proliferation and molecular mechanism of MAPKs' activations in manganese-treated PC12 cell line. *J Hygiene Res* 33: 674-677.
 22. Chan FL, Choi HL, Chen ZY, Chan PS, Huang Y. 2000. Induction of apoptosis in prostate cancer cell lines by a flavonoid, baicalin. *Cancer Lett* 160: 219-228.
 23. Chae MJ, Shim JJ, Kim BH, MD, Hwangbo Y, Lee YJ, Ha SH, Jang JY, Dong SH, Kim HJ, Chang YW, Chang R. 2008. Peroxisome proliferator-activated receptor γ ligands exert antineoplastic effects in hepatocellular carcinoma cells. *Korean J Med* 75: 288-299.
 24. Kuo PL, Hsu YL, Chang CH, Lin CC. 2005. The mechanism of ellipticine-induced apoptosis and cell cycle arrest in human breast MCF-7 cancer cells. *Cancer Lett* 223: 293-301.
 25. Jeon YH, Kim MH, Kim MR. 2008. Antioxidative, anti-mutagenic, and cytotoxic activities of ethanol extracts from *Cornus officinalis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1-7.
 26. Kim BH, Park KU, Kim JY, Jeong IY, Yang GH, Cho YS, Lee ST, Seo KI. 2004. Purification and characterization of anticarcinogenic compound from *Corni fructus*. *Korean J Food Sci Technol* 36: 1001-1007.
 27. Zhang YX, Kong CZ, Wang HQ, Wang LH, Xu CL, Sun YH. 2009. Phosphorylation of Bcl-2 and activation of caspase-3 via the c-Jun N-terminal kinase pathway in ursolic acid-induced DU145 cells apoptosis. *Biochimie* 91: 1173-1179.
 28. Meng YQ, Liu D, Cai LL, Chen H, Cao B, Wang YZ. 2009. The synthesis of ursolic acid derivatives with cytotoxic activity and the investigation of their preliminary mechanism of action. *Bioorg Med Chem* 17: 848-854.

(2010년 2월 9일 접수; 2010년 7월 5일 채택)