

## 감초 신품종과 약전 수재 감초 추출물의 항산화 활성 및 암세포 독성 비교 연구

김민희<sup>1#</sup>, 강명훈<sup>1#</sup>, 이정훈<sup>2#</sup>, 임강현<sup>1</sup>, 안효진<sup>3</sup>, 진종식<sup>4</sup>, 이종현<sup>5</sup>, 장재기<sup>6</sup>, 성신<sup>7</sup>, 김원남<sup>8\*</sup>

- 1 : 세명대학교 한의과대학 본초방제학교실, 2 : 농촌진흥청 국립원예특작과학원 약용작물과,  
3 : 상지대학교 한의과대학 약리학교실, 4 : 전북대학교 환경생명자원대학 한약자원학과,  
5 : 동덕여자대학교 약학대학 약학과, 6 : 농촌진흥청 국립식량과학원 작물재배생리과,  
7 : 소람한방병원, 8 : Cnh 암의학연구소

### Antioxidant Activity and Cytotoxicity against Human Cancer Cells of *Glycyrrhiza* New Varieties : A Comparison with *Glycyrrhiza* Official Compendia

Minhee Kim<sup>1#</sup>, Myunghoon Kang<sup>1#</sup>, Jeonghoon Lee<sup>2#</sup>, Kang-Hyun Leem<sup>1</sup>, Hyo-Jin An<sup>3</sup>,  
Jong-Sik Jin<sup>4</sup>, Jong-Hyun Lee<sup>5</sup>, Jaeki Chang<sup>6</sup>, Shin Seong<sup>7</sup> and Wonnam Kim<sup>8\*</sup>

- 1 : Division of Pharmacology, College of Korean Medicine, Semyung University, 65 Semyung-ro, Jecheon, Chungbuk, 27136, Republic of Korea  
2 : Herbal Crop Research Division, NIHHS, RDA, Eumseong, Chungbuk, 27709, Republic of Korea  
3 : Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Sangji University, 83 Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do 26339, Republic of Korea  
4 : Department of Oriental Medicine Resources, Jeonbuk National University, 79 Gobong-ro, Iksan, Jeollabuk-do 54596, Republic of Korea  
5 : Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Dongduk Women's University, 60 Hwarang-ro 13-gil, Seongbuk-gu, Seoul 02748, Republic of Korea  
6 : Crop Production & Physiology Division, NICS, RDA, Wanju, Jeollabuk-do, 55365, Republic of Korea  
7 : Soram Korean Medicine Hospital, Gangnam-gu, Seoul 06154, Republic of Korea  
8 : Cnh Center for Cancer Research, Gangnam-gu, Seoul 06154, Republic of Korea

### ABSTRACT

**Objectives :** The *Glycyrrhiza* new varieties, WONGAM and SINWONGAM, were developed through interspecific cross between *Glycyrrhiza glabra* and *Glycyrrhiza uralensis* by the National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration in Korea. This in vitro study was undertaken to compare the antioxidant and cytotoxic effects between *Glycyrrhiza* new varieties (WONGAM and SINWONGAM) and official compendia (*Glycyrrhiza glabra* and *Glycyrrhiza uralensis*).

\*Corresponding author : Wonnam Kim, Cnh Center for Cancer Research, Gangnam-gu, Seoul 06154, Republic of Korea.  
· Tel : +82-70-7711-8529 · Fax : +82-70-8282-7007 · E-mail : eb75lab@gmail.com

#First author : Minhee Kim, Division of Pharmacology, College of Korean Medicine, Semyung University, Jecheon, 27136, Republic of Korea.

· E-mail : mickeymhk@gmail.com

Myunghoon Kang, Division of Pharmacology, College of Korean Medicine, Semyung University, Jecheon, 27136, Republic of Korea.

· E-mail : kangmh1994@naver.com

Jeonghoon Lee, Herbal Crop Research Division, NIHHS, RDA, Eumseong, Chungbuk, 27709, Republic of Korea.

· E-mail : artemisia@korea.kr

· Received : 12 April 2021 · Revised : 28 April 2021 · Accepted : 25 May 2021

**Methods :** Antioxidant activity was determined by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhy drazyl), ABTS (2,2-azino-bis(3-rthylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)) diammonium salt, Nitrite radical scavenging assay, and Reducing Power assay. Cytotoxicity was determined by MTT assay and cell morphology was observed by an inverted microscope.

**Results :** The DPPH, ABTS, Nitrite radical scavenging activities and reducing power of *Glycyrrhiza glabra*, *Glycyrrhiza uralensis*, WONGAM, and SINWONGAM were evaluated at different concentrations (0, 10, 50, 100, 500, 1000  $\mu\text{g/ml}$ ). *Glycyrrhiza glabra*, *Glycyrrhiza uralensis*, WONGAM, and SINWONGAM showed similar dose-dependent increase in antioxidant activities. The cytotoxic effects with increasing doses of *Glycyrrhiza* new varieties and official compendia did not differ in HCT116, HT29, A549, MDA-MB231, PC3, ACHN, and HeLa cells. However, significant difference in cytotoxicity were observed in AGS, MCF7 and Hep3B cells by *Glycyrrhiza glabra*, *Glycyrrhiza uralensis*, WONGAM, and SINWONGAM.

**Conclusions :** These results showed that *Glycyrrhiza* new varieties and official compendia acts as a potent antioxidant. Also, the finding that equivalent cytotoxic potency was observed in a cell dependent manner. Our study suggests that *Glycyrrhiza* new varieties may offer a wide-variety of health benefits.

**Key words :** Antioxidant, Cytotoxicity, *Glycyrrhiza glabra*, *Glycyrrhiza uralensis*, WONGAM, SINWONGAM

## I. 서 론

감초는 콩과에 속하는 다년생 초본으로 한국, 중국, 일본 등에서 한약재로 널리 이용되는 약용식물이다. 우리나라에 유통되는 감초에는 크게 세 종류(*Glycyrrhiza uralensis* Fischer (*G. uralensis*), *Glycyrrhiza glabra* L. (*G. glabra*), *Glycyrrhiza inflata* Bata.)가 있다. *G. uralensis*는 만주감초로 몽골과 중국에서 서식하며, 대부분 중국에서 수입하는 것으로 알려져 있고<sup>1,2)</sup>, *G. glabra*는 유럽감초로 우즈베키스탄 등 중앙아시아 지역에 주로 서식하는 것으로 알려져 있다<sup>3)</sup>. 감초는 대부분 수입에 의존해 왔기 때문에 그 수급을 위한 대책이 필요한데 최근에는 국내에서도 감초 재배에 성공하였고, 농촌진흥청에서 WONGAM, SINWONGAM, DAGAM 등의 감초 신품종을 개발하였다<sup>4,5)</sup>.

감초는 항산화, 항염증 및 항궤양, 항암, 항알레르기 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다. Kim과 Ryu는 산화적 스트레스를 유발한 피부각질형성세포에 대하여 감초 에탄올 추출물과 열수 추출물의 항산화 효능을 확인했고, 비만세포인 RBL-2H3 cell에서 분비된 탈과립의 양을 측정하여 항알레르기 효능을 확인하였으며, 대식세포인 Raw 264.7 cell을 이용하여 Nitric oxide(NO) 생성억제 효과를 확인하여 항염증 효능을 입증하였다<sup>6)</sup>. Park 등은 감초 성분인 liquiritigenin이 PC-12 세포에 Pb를 처리하여 발생한 NO를 억제하는 세포 보호 효과를 보고하였다<sup>7)</sup>. Seon 등은 전립선 암세포 DU145에서 감초 성분인 isoangustone A가 apoptosis를 유도하고 cell cycle 억제를 통한 DU145 세포증식 억제 효과를 발견하여 감초의 항암 효능을 확인하였다<sup>8)</sup>.

감초의 주요 활성성분은 triterpenoid saponin 계통인 glycyrrhizin으로 감초 뿌리에 3~5% 정도 함유되어 있으며 항알레르기, 항산화, 항염증, 항바이러스, 항암 등과 같은 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다<sup>9)</sup>. Flavonoid 계통의 생리 활성 성분인 liquiritigenin, liquiritin, glycyrin, licoricidin, licoriconone 등은 항염증, 항암 등 다양한 효능이

보고되었으며, 특히 항산화와 깊은 관련성을 지닌다<sup>10)</sup>. Isoflavonoid 계통의 생리 활성 성분으로는 glabridin, glabrene 등이 있고, phenol 계통인 glycy coumarin, licopyranocoumarin과 coumarin 계통인 herniarin과 umbelliferone이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다<sup>11-13)</sup>.

한편, 단일 종에서 감초의 성분과 효능 연구가 많이 이루어져 있으나 신품종 연구는 항알레르기, 면역조절, 항궤양 작용으로 제한된 실정이다<sup>14-16)</sup>. 이에 본 연구는 약전 수재 감초 2종(*G. uralensis* 및 *G. glabra*)과 국내에서 개발된 감초 신품종 2종(WONGAM, SINWONGAM)에 대한 항산화 활성을 분석하고, 우리나라에서 발병률이 높은 암을 대상으로 선별된 암 세포에 대하여 세포독성을 분석, 비교함으로써 감초 신품종의 약리 효능을 확인하는 기초 연구를 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

#### 1) 재료 및 시료 추출

연구에 사용된 WONGAM, SINWONGAM, *G. glabra*, *G. uralensis* 추출물은 농촌진흥청으로부터 제공받았다. 4종의 감초 샘플은 각각 물로 추출되었다. 추출물은 감압 농축 후, 여과와 저온살균을 거쳐 4°C에 저장되었다. 각 건조 추출물의 수율은 WONGAM, SINWONGAM, *G. glabra*, *G. uralensis*가 8.8%, 9.13%, 7.71%, 6.53%였다. 감초 추출물의 항산화 실험에서는 distilled water를, 세포독성 실험에서는 각 세포의 배양액을 용매로 용해시켜 사용하였다.

#### 2) 실험 시약 및 기기

실험에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydr-azyl(DPPH), 2,2-azino-bis(3-rthylbenz-thiazoline-6-sulfonic

acid)diammonium salt(ABTS), potassium persulfate, Ascorbic acid, potassium ferricyanide, ferric chloride, sodium nitrite, acetic acid, sulfanilamide, trichloro acetic acid, naphthylethylene diamine dihydrochloride는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium(MTT)와 HCl은 Tokyo Chemical Industry Co.(Tokyo, Japan)에서 구입하였고, Ethanol, phosphoric acid, Dimethyl sulfoxide는 Daejung Chemicals Co.(Siheung Si, Korea)에서 구입하였다.

또한 세포 배양을 위한 Dulbecco's modified eagle's minimal essential medium(DMEM/High glucose), Roswell Park Memorial Institute medium(RPMI-1640, with L-glutamin)는 Welgene Fresh Media(Gyeongsan-Si, Korea)에서 구입하였고, Roswell Park Memorial Institute medium(RPMI-1640, with 25 mM HEPES)는 Hyclone Co.(Logan, UT, USA)에서 구입하였다.

## 2. 항산화 활성 측정

### 1) DPPH radical 소거능 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical scavenging assay는 Dietz 등<sup>17)</sup>의 실험법을 따랐다.

농도별 시료와 0.2 mM DPPH 시약을 30분간 반응시킨 뒤 520 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH radical의 환원에 따른 흡광도 감소율을 조사하였다. 무처리군과 처리군의 값을 비교하여 DPPH radical 소거능을 결정하였다. 이때 대조군으로는 1 mM ascorbic acid를 이용하였다.

DPPH radical scavenging activity (%)

$$= \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

### 2) ABTS radical 소거능 측정

ABTS radical scavenging assay는 Van den Berg 등<sup>18)</sup>의 실험법을 참고하여 측정하였다.

7 mM 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)diammonium salt(ABTS)와 2.45 mM potassium persulfate를 최종농도로 혼합하여 37°C, 암소에서 24시간동안 두어 ABTS radical이 형성되도록 한 후 732 nm에서 흡광도 값이 0.9 ± 0.1이 되도록 증류수를 이용하여 희석시켰다. 농도별 시료와 희석된 ABTS radical 용액을 10분간 실온의 암소에서 반응시킨 뒤 732 nm에서 ABTS radical의 환원에 따른 흡광도의 감소를 조사하였다. 무처리군과 처리군의 값을 비교하여 ABTS radical 소거능을 결정하였으며 대조군으로는 1 mM ascorbic acid를 이용하였다.

ABTS radical scavenging activity (%)

$$= \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

### 3) 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 Kato 등<sup>19)</sup>의 방법에 따라 측정하였다.

1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액 2 ml에 농도별 시료 1 ml를 가하고 0.1 N HCl를 이용하여 용액의 pH를 1.2로 만든 뒤 전체 양을 10 ml로 맞추고 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 1시간 뒤에 반응액을 1 ml씩 취하여 2% acetic acid 5 ml, Griess 시약 (A:B=1:1, A: 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B: 1% naphthylamine in 30% acetic acid)을 0.4 ml 가하여 혼합한 후 실온의 암소에서 15분 동안 반응시킨 뒤 520 nm에서 흡광도를 조사하였다. 무처리군과 처리군의 값을 비교하여 아질산염 소거능을 결정하였으며 대조군으로는 1 mM ascorbic acid를 이용하였다.

Nitrite radical scavenging activity (%)

$$= \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

### 4) 환원력(Reducing Power) 측정

Reducing Power assay는 Oyaizu의 방법<sup>20)</sup>을 참고하여 측정하였다.

각 농도별 시료 100 μl에 0.2 M potassium phosphate buffer(pH 6.6) 250 μl와 1% potassium ferricyanide 250 μl를 혼합한 후, 50°C에서 20분 동안 반응시켰다. 10% trichloroacetic acid 250 μl을 추가하여 반응을 정지시킨 뒤 3000 rpm에서 10분간 원심 분리 하여 상등액 500 μl에 증류수 500 μl와 0.1% ferric chloride 10 μl를 가하여 10분 동안 상온에서 반응시킨 후, 700 nm에서 흡광도를 조사하였다. 시료의 환원력은 흡광도의 값으로 나타내었다.

## 3. 세포별 cell viability 평가

### 1) 세포주 및 세포배양

우리나라에서 발병률이 높은 암을 대상으로 암세포주를 선별하였다. 실험에 사용한 암세포주(AGS, HCT116, HT29, A549, MCF7, MDA-MB231, PC3, Hep3B, ACHN, HeLa)는 한국 세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 배양 시 HCT116는 RPMI-1640 with L-glutamine and sodium bicarbonate, A549, PC3, AGS, Hep3B, HT29, MCF7, MDA-MB231, 그리고 HeLa는 RPMI-1640 with 25 mM HEPES and L-glutamine, ACHN는 DMEM 배지를 사용하였다. 10% FBS와 1% penicillin/streptomycin을 배양액에 첨가하였으며, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양조건을 유지하며 배양시켰다.

### 2) 세포 독성 측정

세포 독성 측정은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium(MTT) assay를 통해 측정하였으며, Sharifi 등<sup>21)</sup>의 방법을 참고하여 진행했다.

96-well plate에 세포를 1 × 10<sup>4</sup> cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양한 뒤 농도별(0, 10, 100, 200, 400, 800, 1000, 2000 μg/ml) 시료를 각각 처리하였고 다시 24시간 동안

배양하였다. 24시간 뒤에 0.5 mg/ml MTT 용액을 넣고 3시간 동안 배양한 뒤 형성된 formazan을 DMSO를 이용하여 용해시킨 뒤 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Cell viability (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

### 3) 암세포 형태 관찰

4종의 감초 처리 시에 암세포의 형태학적인 변화 관찰을 위하여 각 세포들을 96 well plate에  $1 \times 10^4$  cells/well로 분주하고, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양한 후, 농도별 시료를 처리하여 다시 24시간 배양 후에 microscope camera(Moticam Pro 285B, Hongkong)을 이용하여 세포의 형태를 관찰하고, Motic Images Plus 3.0 프로그램을 이용하여 촬영하였다.

## 4. 통계분석

모든 실험은 3회 반복 수행하였으며 분석결과는 각각의 군별로 평균과 표준오차(mean ± SEM)로 나타내었고, 모든 실험분석 결과의 통계분석은 GraphPad Prism (version 5.01, San Diego, CA, USA) 프로그램을 이용하여 실시하였다. 항산화 활성에 대한 DPPH radical 소거능 측정, ABTS radical 소거능 측정, 아질산염 소거능 측정, 환원력 측정의 결과는 one-way ANOVA를 실시하였으며 통계적 유의성은 Turkey의 다중비교분석을 통하여  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다. 10가지 암세포주에 대하여 4종 감초 사이의 cell viability 차이 비교는 공분산분석(ANCOVA)을 시행하였고, 유의 수준은  $p = 0.05$ 로 설정하였다. 0 µg/ml과 2000 µg/ml 농도에 대한 4종 감초의 cell viability 비교는 two-way ANOVA를 통해 bonferroni 사후 테스트로 유의성을  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다.

## III. 결 과

### 1. DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical 소거능 측정은 항산화 물질의 전자 공여능에 의하여 free radical이 환원되어 소거되면서 탈색되고, 흡광도가 감소하는 원리를 이용하여 항산화 활성을 검정하는 방법이다.

4종의 감초 시료에 대한 DPPH radical 소거능을 각각 측정한 결과 4종 감초 모두 농도 의존적으로 유의하게 증가하였다. 1000 µg/ml의 농도에서 *G. glabra*는  $57.4 \pm 1.7\%$ , *G. uralensis*는  $82.1 \pm 1.5\%$ , WONGAM은  $50.9 \pm 0.8\%$ , SINWONGAM은 가장 높은  $82.6 \pm 1.1\%$ 의 소거 활성을 보였다(Fig. 1.).

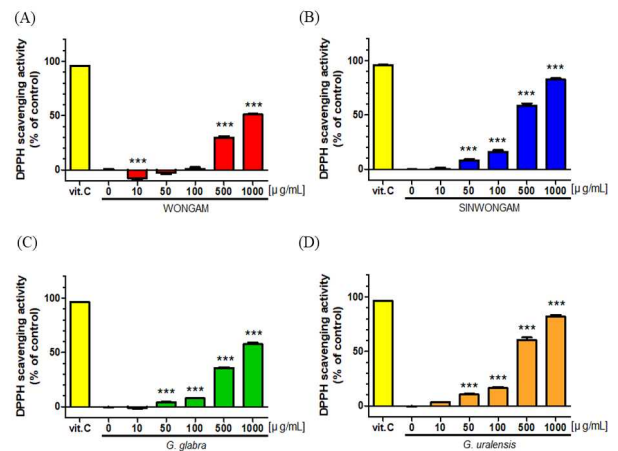


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of *Glycyrrhiza* new varieties and official compendia. (A) WONGAM (B) SINWONGAM (C) *G. glabra* and (D) *G. uralensis*. Values represent mean ± SEM of three independent experiments. \*\*\* $p < 0.001$  compared with control.

### 2. ABTS radical 소거능 측정

ABTS radical 소거능 측정은 ABTS와 potassium persulfate의 반응에 의해 생성된 ABTS radical이 항산화 물질에 의해 소거되면서 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법이다.

4종의 감초 시료에 대하여 ABTS radical 소거능을 측정한 결과 4종의 감초 모두 농도 의존적으로 유의하게 증가하였다. 1000 µg/ml의 농도에서 *G. glabra*는  $91.3 \pm 1.9\%$ , *G. uralensis*는  $98.3 \pm 0.3\%$ , WONGAM은  $88.1 \pm 1.8\%$ , SINWONGAM은 가장 높은  $98.6 \pm 0.1\%$ 의 소거 활성을 보였다(Fig. 2.).

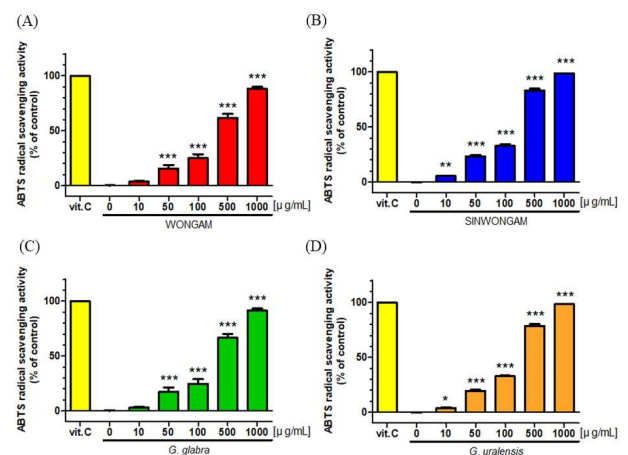


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of *Glycyrrhiza* new varieties and official compendia. (A) WONGAM (B) SINWONGAM (C) *G. glabra* and (D) *G. uralensis*. Values represent mean ± SEM of three independent experiments. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  compared with control.

### 3. 아질산염 소거능 측정

아질산염은 체내에서 NO synthase라는 효소의 작용을 통해 L-arginine으로부터 생성되는 반응성이 강한 free radical

을 말한다. 아질산염은 낮은 산성 조건에서 발암성 물질인 nitrosamine을 쉽게 생성하기 때문에 위장의 pH 조건과 유사한 pH조건(pH 1.2)으로 설정하여 그 소거능을 측정한다.

4종의 감초 시료에 대하여 아질산염 소거능을 측정한 결과 4종의 감초 시료 모두에서 500  $\mu\text{g/ml}$ 까지 농도 의존적으로 유의하게 증가하였다. 500  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 *G. glabra*는  $85.0 \pm 4.1\%$ , *G. uralensis*는  $94.9 \pm 0.2\%$ , WONGAM은  $93.4 \pm 0.7\%$ , SINWONGAM은 가장 높은  $92.4 \pm 0.4\%$ 의 소거 활성을 보였다(Fig. 3).

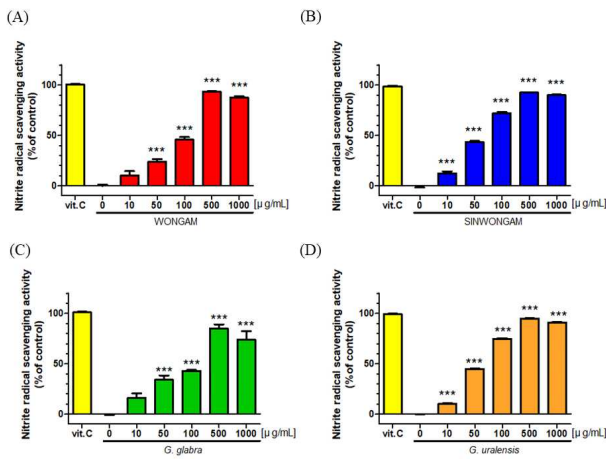


Fig. 3. Nitrite radical scavenging activity of *Glycyrrhiza* new varieties and official compendia. (A) WONGAM (B) SINWONGAM (C) *G. glabra* and (D) *G. uralensis*. Values represent mean  $\pm$  SEM of three independent experiments. \*\*\* $p < 0.001$  compared with control.

#### 4. 환원력(Reducing Power) 측정

항산화 물질의 환원제는 수소 원자를 제공하여 free radical chain reaction을 중단시킴으로써 환원력을 제공하고, peroxide의 전구체와 반응하여 peroxide의 형성을 방지하는 것으로 보고되었다<sup>22)</sup>. 환원력의 측정은 potassium ferricyanide를 이용하여 전자 공여능을 측정하는 방법으로 항산화 물질은

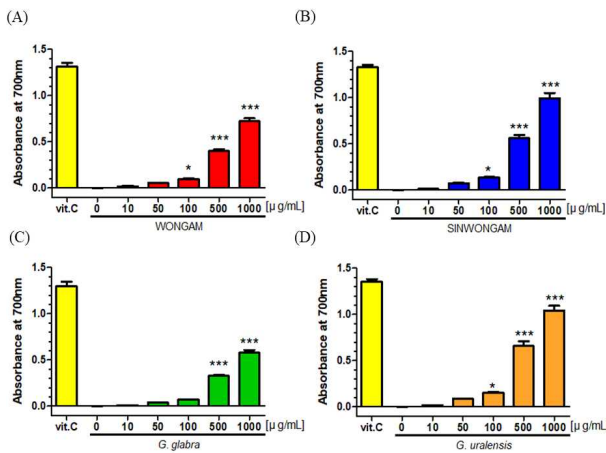


Fig. 4. Reducing power value of *Glycyrrhiza* new varieties and official compendia. (A) WONGAM (B) SINWONGAM (C) *G. glabra* and (D) *G. uralensis*. Values represent mean  $\pm$  SEM of three independent experiments. \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  compared with control.

ferric ion/ferricyanide 복합체를 환원시키는데, 이 환원된 물질이 700 nm에서 최대의 흡광도를 가지기 때문에 흡광도 값을 이용하여 항산화 활성을 측정할 수 있다<sup>23)</sup>.

4종의 감초 시료의 환원력을 측정하여 흡광도 값으로 나타낸 결과 4종 모두에서 농도 의존적으로 증가하였다. 1000  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 *G. glabra*는  $0.58 \pm 0.03$ , *G. uralensis*는 가장 높은  $1.04 \pm 0.05$ , WONGAM은  $0.72 \pm 0.03$ , SINWONGAM은  $0.99 \pm 0.06$ 의 흡광도 값을 나타냈으며, 대조군인 ascorbic acid의 경우  $1.32 \pm 0.02$ 의 흡광도 값을 나타냈다(Fig. 4.).

#### 5. 세포별 cell viability 측정

MTT assay는 살아있는 세포 내에 존재하는 미토콘드리아의 탈수소효소작용에 의하여 MTT tetrazolium이 불용성의 MTT formazan으로 환원되는 원리를 이용하여 시료의 cytotoxicity를 측정하는 방법이다.

4종의 감초를 이용하여 우리나라에서 발병률이 높은 암을 대상으로 선별한 10가지 암세포에 대해 시료의 농도에 따라 MTT assay를 시행한 결과 Fig. 5.와 같다.

HCT116, HT29, A549, MDA-MB231, PC3, ACHN, HeLa의 총 7가지 암세포주에 대하여 cell viability 측정 결과 4종의 감초 시료 사이에서 유의한 차이를 발견할 수 없었다(Fig. 5.).

한편, AGS, MCF7, 그리고 Hep3B 3가지 암세포주에서는 4종 감초를 처리한 결과 각 그룹에 대하여 AGS는  $p = 0.0081$ ,

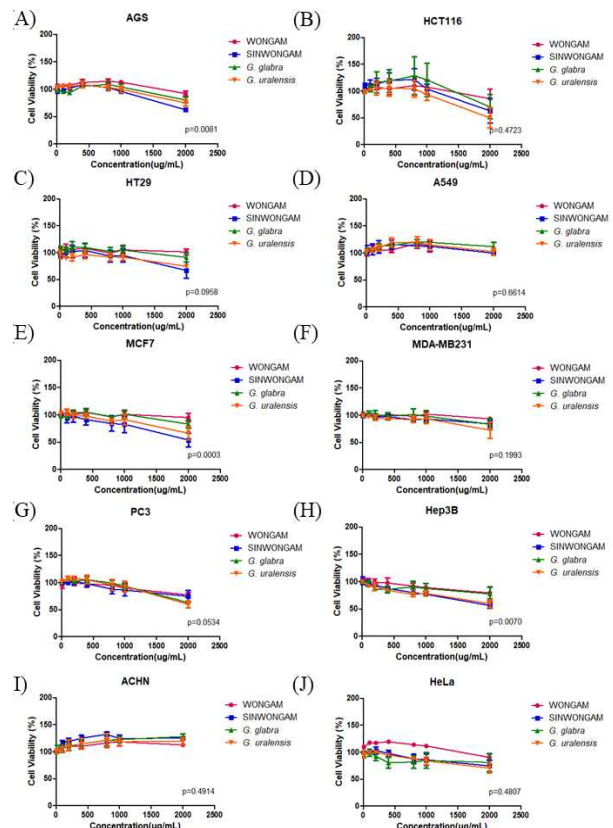


Fig. 5. Cytotoxic effect of WONGAM, SINWONGAM, *G. glabra*, and *G. uralensis* in human cancer cell lines. Values represent mean  $\pm$  SEM of three independent experiments.



MCF7는  $p = 0.0003$ , Hep3B는  $p = 0.0070$ 의 유의한 차이를 발견할 수 있었다(Fig. 5.).

4종 감초 사이의 유의한 차이가 나타난 3 가지 암세포주에서 0과 2000  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 cell viability와 cell morphology 결과는 Fig. 6.와 같다. AGS의 경우 2000  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 *G. glabra*는  $80.2 \pm 5.0\%$ , WONGAM은  $92.1 \pm 4.6\%$ , *G. uralensis*는  $74.9 \pm 5.9\%$ , SINWONGAM은  $62.5 \pm 2.9\%$ 의 cell viability를 나타냈다. Hep3B의 경우 2000  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 *G. glabra*는  $77.4 \pm 12.6\%$ , WONGAM은  $79.2$

$\pm 10.9\%$ , *G. uralensis*는  $59.7 \pm 6.9\%$ , SINWONGAM은  $56.5 \pm 5.0\%$ 의 cell viability를 보였다. MCF7의 경우 2000  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 *G. glabra*는  $83.1 \pm 7.2\%$ , WONGAM은  $95.0 \pm 7.3\%$ , *G. uralensis*는  $66.5 \pm 11.7\%$ , SINWONGAM은  $54.1 \pm 12.4\%$ 의 cell viability를 나타냈다. SINWONGAM과 *G. uralensis*는 3가지 암세포주, *G. glabra*는 AGS에서 유의한 세포독성이 나타났으나 WONGAM은 3가지 암세포주 모두에서 유의한 세포독성이 나타나지 않았다(Fig. 6.).

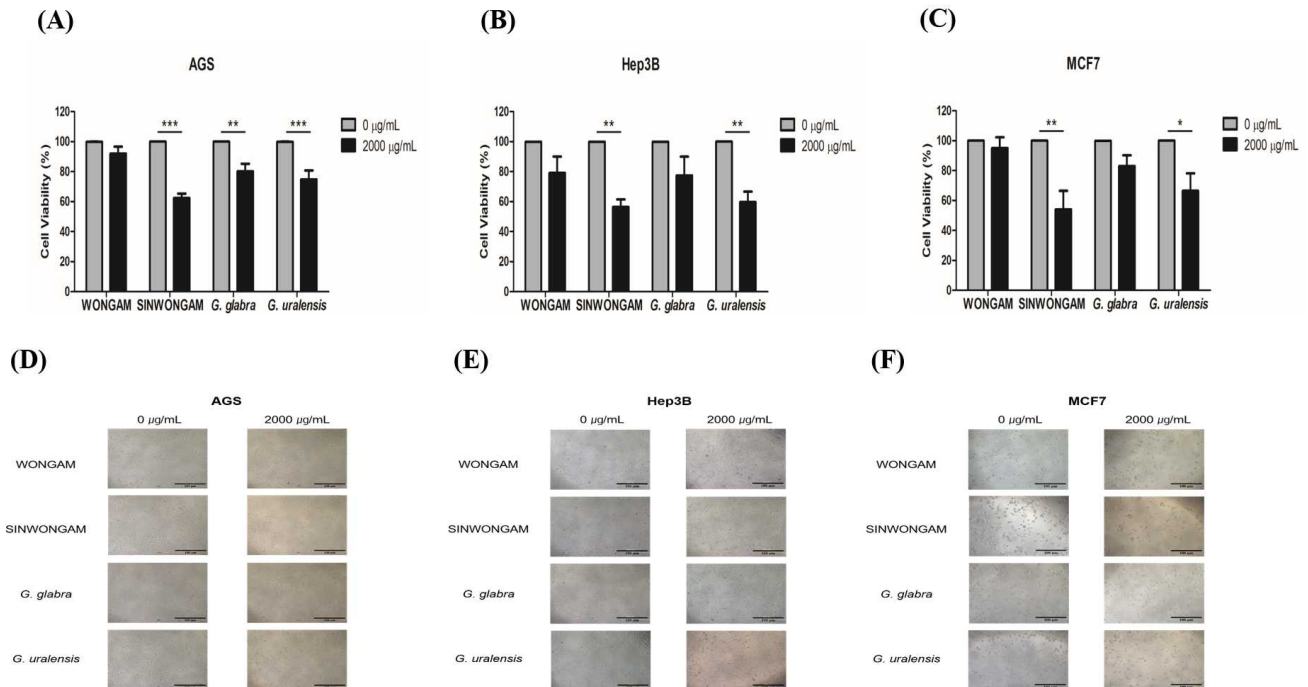


Fig. 6. Effects of WONGAM, SINWONGAM, *G. glabra*, and *G. uralensis* on cell viability and morphological changes. Cell viability of (A) AGS, (B) Hep3B, and (C) MCF7 cancer cells. Cell morphology of (D) AGS, (E) Hep3B, and (F) MCF7 cancer cells. Bar : 100  $\mu\text{m}$ . Values represent mean  $\pm$  SEM of three independent experiments. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  compared with controls.

## IV. 고찰

본 연구에서는 감초 신품종인 WONGAM, SINWONGAM, 약전 수재 감초인 *G. glabra*, *G. uralensis* 총 4종 감초에 대하여 항산화 활성과 세포독성 분석을 통해 육성 품종과 수재 감초의 약리 효능을 비교 분석하였다.

우선 4종 감초의 항산화 활성은 DPPH radical, ABTS radical, 아질산염에 대한 소거능 측정과 환원력 측정을 통해 분석하였다. 모든 실험에서 4종 감초는 농도 의존적으로 항산화 활성이 증가하였다. 감초 신품종과 약전 수재 감초 모두 우수한 항산화 활성을 지닌 것을 확인할 수 있었다.

*G. uralensis* 에탄올과 열수 추출물 각각의 항산화 활성을 확인한 연구<sup>24)</sup>에서는 400  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 에탄올 추출물은 68.62%, 열수 추출물은 48.62%의 DPPH radical 소거능을 나타냈으며, 이는 본 연구의 실험결과 500  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 *G. uralensis*의 DPPH radical 소거능이  $60.3 \pm 2.6\%$ 로 나타난 결과와 유사하였다. 감초 신품종 추출물의 항산화 활성을

본 다른 연구<sup>5)</sup>에서는 무처치군의 흡광도를 100%로 하였을 때, 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리된 감초 신품종별 추출물의 상대 흡광도가 SINWONGAM이 19.3, WONGAM이 40.8으로 값을 나타냈으며, DPPH radical 소거능을 IC<sub>50</sub>로 환산한 결과 SINWONGAM 추출물이 55.1  $\mu\text{g/ml}$ , WONGAM 추출물이 82.1  $\mu\text{g/ml}$ 의 수치를 보여 SINWONGAM의 우수한 유리기 소거능을 보고하였다. 본 연구에서는 WONGAM과 SINWONGAM 열수 추출물의 DPPH radical, ABTS radical, 아질산염 소거능을 확인한 결과 SINWONGAM이 WONGAM 보다 더 우수한 유리기 소거능을 나타냈다.

본 연구는 4종 감초에 대하여 항산화 활성을 측정한 결과 1000  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 DPPH radical 소거능은 *G. glabra* ( $57.4 \pm 1.7\%$ )와 WONGAM( $50.9 \pm 0.8\%$ ), *G. uralensis* ( $82.1 \pm 1.5\%$ )와 SINWONGAM( $82.6 \pm 1.1\%$ )이 유사한 경향성을 보였다. 1000  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 ABTS radical 소거능은 *G. glabra*( $91.3 \pm 1.9\%$ )와 WONGAM( $88.1 \pm 1.8\%$ ),

*G. uralensis*(98.3 ± 0.3%)와 SINWONGAM(98.6 ± 0.1%)이 유사한 경향성을 나타냈다. 500 µg/ml의 농도에서 아질산염 소거능 역시 *G. glabra*(85.0 ± 4.1%)와 WONGAM(87.3 ± 1.6%), *G. uralensis*(94.9 ± 0.2%)와 SINWONGAM(89.8 ± 0.8%) 사이에서 유사한 유리기 소거능을 나타냈다. SINWONGAM과 *G. uralensis*가 WONGAM과 *G. glabra*에 비해 더 우수한 항산화 활성을 지닌 것으로 나타났다. 1000 µg/ml의 농도에서 환원력을 확인한 실험에서 *G. glabra*(0.58 ± 0.03)와 WONGAM(0.72 ± 0.3), *G. uralensis*(1.04 ± 0.05)와 SINWONGAM(0.99 ± 0.05)이 서로 유사한 정도의 흡광도 값을 나타냈다. SINWONGAM과 *G. uralensis*가 WONGAM과 *G. glabra*보다 더 우수한 환원력을 지닌 것으로 나타났다.

감초의 신품종별 추출물에 대하여 주요 성분의 함량을 분석한 기존의 연구<sup>5)</sup>에서 감초 신품종 추출물의 총 phenol 함량을 분석한 결과 flavonoid 계통인 liquiritin, isoliquiritigenin의 함량이 DAGAM에서 가장 높았고, licochalcone A는 SINWONGAM이 가장 높은 수치를 보였다. 총 phenol 함량은 SINWONGAM 추출물이 167.6 mg/g로 가장 높았다. Licochalcone A의 항산화 효과가 알려져 있으며<sup>25)</sup>, 항산화 활성은 phenol 함량과 상관관계수가 높다는 연구 결과 역시 보고되었다<sup>26)</sup>. 본 연구에서 SINWONGAM 추출물에 함유된 licochalcone A 등 phenol 화합물이 다량 존재하기 때문에 가장 우수한 항산화 활성을 나타낸 것으로 판단된다.

감초의 항산화 활성과 관련된 또 다른 flavonoid 성분들인 licochalcone B, echinatin, glycycomarin, glyurallin B 등은<sup>27)</sup> Raw 264.7 대식세포에서 lipopolysaccharide로 유발된 reactive oxygen species(ROS), NO, Interleukin 6(IL-6) 및 Prostaglandin E2(PGE<sub>2</sub>) 생산을 억제하여 항산화와 항염증 효능이 보고되었다. 본 연구에서 4종 감초의 항산화 활성과 경향성 차이가 나타난 것은 항산화 활성과 관련된 licochalcone A, licochalcone B, echinatin, glycycomarin, glyurallin B, glycyrrhizin, liquiritin, glabridin<sup>28-30)</sup> 등 감초의 주요 성분 함량 차이에서 기인한 것으로 사료된다. 따라서 4종 감초 각각의 주요 성분 함량을 분석하여, 항산화 활성과의 상관성 연구가 추후 필요할 것으로 보인다.

한편, 2019년 국가암정보센터 자료<sup>31)</sup>에 따르면, 국내에서 가장 많이 발생한 암은 위암이었으며, 대장암, 폐암, 갑상선암, 유방암, 간암, 전립선암의 순으로 많이 발생하는 것으로 나타났다. 남성은 위암, 폐암, 대장암, 전립선암, 간암의 순으로 발병률이 높으며, 여성은 유방암, 갑상선암, 대장암, 위암, 폐암의 순으로 많이 발생하는 것으로 발표되었다. 이에 발병률이 높은 암을 대상으로 총 10가지 암세포주를 선별하였다. 위암(AGS), 대장암(HCT116, HT29), 폐암(A549), 유방암(MDA-MB231, MCF7), 전립선암(PC3), 간암(Hep3B), 신장암(ACHN), 자궁경부암(HeLa) 세포에 대한 2종 감초 신품종과 2종 약전 수재 감초의 암세포 독성을 비교 분석하는 실험을 진행하였다.

기존 연구에서 감초의 성분인 18α-Glycyrrhetic acid(18α-GA)의 위암세포 사멸 효과 연구<sup>32)</sup>에서는 AGS에 농도별 18α-GA를 처리하고 24시간 뒤에 MTT assay를 한 결과 150 µM이상에서 뚜렷한 위암세포 사멸 효과를 관찰할 수 있

었으며, 18α-GA의 농도가 100 µM일 때 81.4 ± 3.6%, 150 µM에서 56.6 ± 4.6%, 200 µM에서 26.8 ± 2.3%의 세포 생존 결과를 보여, 농도 의존적인 세포 사멸 효과를 확인하였다. 18α-GA가 caspase 3, caspase 9과 c-Jun-N-terminal kinase(JNK)을 통해 활성산소 매개 세포 사멸을 일으키는 것으로 그 기전을 보고하였다. MCF7 유방암세포의 성장 저해 및 apoptotic activity에 대한 연구<sup>33)</sup>에서는 감초의 glycyrrhizic acid가 apoptosis와 sub-G1 cell cycle arrest를 유도하여 세포 성장을 저해하였고, 이는 m-TOR/PI3K/Akt pathway에 의해 조절되는 것으로 보고하였다.

본 연구에서 4종 감초의 세포독성을 확인한 결과 10가지 가운데 7가지 암세포주에서 농도 변화에 따른 4종 감초 간 유의한 차이가 없어 효능 동질성을 확인할 수 있었다. 한편, AGS, MCF7, Hep3B의 3가지 암세포주에서 농도 변화에 따른 4종 감초의 유의한 효능 차이를 볼 수 있었다. AGS에서 0 µg/ml과 2000 µg/ml 농도에서 cell viability를 비교할 때, WONGAM은 0.92배, SINWONGAM은 0.62배, *G. glabra*는 0.8배, 그리고 *G. uralensis*는 0.75배 감소하였다. Hep3B에서 0 µg/ml과 2000 µg/ml 농도에서 cell viability를 비교할 때, WONGAM은 0.79배, SINWONGAM은 0.56배, *G. glabra*는 0.77배, 그리고 *G. uralensis*는 0.6배 감소하였다. MCF7에서 0 µg/ml과 2000 µg/ml 농도에서 cell viability를 비교할 때, WONGAM은 0.95배, SINWONGAM은 0.54배, *G. glabra*는 0.83배, 그리고 *G. uralensis*는 0.66배 감소하였다. AGS, Hep3B, MCF7 암세포주 모두 SINWONGAM의 독성이 가장 높은 것으로 나타났다.

감초에서 항암 효능을 지닌 flavonoid 성분을 분리하고 세포 독성을 진행한 연구<sup>34)</sup>에서 glabrol, abyssinone II, glabridin, isoliquiritigenin이 여러 flavonoid 중 높은 성장 억제율을 나타냈고, 특히 glabrol은 농도 의존적으로 HCT116, SK-BR-3, SK-MEL-5의 성장을 억제하였다. Triterpenoid saponin 계통의 감초 성분인 glycyrrhizin을 간암세포인 HepG2와 MHCC97-H에 처리한 결과<sup>35)</sup> glycyrrhizin은 시간과 농도 의존적으로 세포 생존율을 저해하는 항암 효능을 보고하였다.

3가지 암세포주에서 농도 변화에 따른 4종 감초의 세포독성 차이를 일으킨 요소는 glycyrrhizin, 18α-GA, glabrol, abyssinone II, glabridin, isoliquiritigenin, licoricidin, glycycomarin<sup>36-37)</sup> 등 주요 항암 성분의 함량 차이가 기인했을 것으로 보인다. 향후 암세포주에서 4종 감초의 성분 함량 차이에 따른 성장과 사멸 작용기전의 차이를 비교 분석하는 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

## V. 결 론

본 연구에서는 감초 신품종인 WONGAM과 SINWONGAM, 약전 수재 감초인 *G. glabra*와 *G. uralensis*에 대하여 각각의 항산화 활성을 평가하고, 국내에서 발병률이 높은 암을 대상으로 선별된 10가지 암세포주에서 감초 신품종과 약전 수재 감초의 세포독성을 비교 분석하였으며 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 4종 감초에 대한 DPPH radical 소거능을 측정된 결과 농도 의존적으로 유의하게 증가하였으며, 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 *G. glabra*는  $57.4 \pm 1.7\%$ , *G. uralensis*는  $82.1 \pm 1.5\%$ , WONGAM은  $50.9 \pm 0.8\%$ , SINWONGAM은  $82.6 \pm 1.1\%$ 의 높은 소거능을 보였다.
  2. ABTS radical 소거능은 농도 의존적으로 증가하였으며, 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 *G. glabra*는  $91.3 \pm 1.9\%$ , *G. uralensis*는  $98.3 \pm 0.3\%$ , WONGAM은  $88.1 \pm 1.8\%$ , SINWONGAM은  $98.6 \pm 0.1\%$ 의 높은 소거능을 보였다.
  3. 아질산염 소거능은 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 *G. glabra*는  $85.0 \pm 4.1\%$ , *G. uralensis*는  $94.9 \pm 0.2\%$ , WONGAM이  $87.3 \pm 1.6\%$ , SINWONGAM이  $89.8 \pm 0.8\%$ 로 탁월하였다.
  4. 환원력 측정 결과 농도 의존적으로 증가하였으며, 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 *G. glabra*는  $0.58 \pm 0.03$ , *G. uralensis*는  $1.04 \pm 0.05$ , WONGAM은  $0.72 \pm 0.03$ , SINWONGAM은  $0.99 \pm 0.05$ 의 흡광도를 나타냈으며 대조군인 1 mM ascorbic acid의  $1.32 \pm 0.02$  흡광도와 유사한 높은 환원력을 나타냈다.
  5. 10가지 암세포주에서 농도 변화에 따른 4종 감초의 세포독성을 분석한 결과 HCT116, HT29, A549, MDA-MB231, PC3, ACHN, HeLa의 7가지 암세포주에서는 WONGAM, SINWONGAM, *G. uralensis*, *G. glabra* 사이의 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 한편, AGS( $p = 0.0081$ ), MCF7( $p = 0.0003$ ), Hep3B( $p = 0.0070$ ) 3가지 암세포주에서 WONGAM, SINWONGAM, *G. uralensis*, *G. glabra* 사이의 유의한 차이를 발견할 수 있었다.
- 따라서 감초 신품종과 약전 수재 감초의 생리활성을 비교한 결과 모두 우수한 항산화 효과와 암세포주에 따른 세포독성을 나타내는 효능 동질성을 발견할 수 있었다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01424602)의 지원에 의해 이루어진 것임.

## References

1. Kobayashi T, Shinkai A, Yasufuku N, Omine K, Marui A, Nagaruchi T. Field surveys of soil conditions in steppe of northeastern Mongolia. *Arid Land Res Manag.* 2012 ; 22 : 25-8.
2. Furukawa Z, Yasufuku N, Omine K, Marui A, Kameoka R, Tuvshintogtokh I, Mandakh B, Bat-Enerel B, Yeruult Y. Settings and geo-environmental conditions of developed greening soil materials (GSM) for cultivating licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) in Mongolian arid region. *Arid Land Res Manag.* 2015 ; 25 : 105-8.
3. International Technology Cooperation Center (ITCC), RDA-RIPi International agricultural technology cooperation project carried out - Studies on the collection of medicinal crop resources such as licorice and distribution of interspecific crosses in Central Asia. Rural Development Administration(RDA), Jeonju, Korea, 2017 : 1-11.
4. Park CG, Lee JH, Kim OT, Park CB, Kim GS, Ahn YS, Cha SW, Lee SH, Kim MS, Huh CS, Cho YS. A new *Glycyrrhiza* variety Wongam through interspecific cross between *Glycyrrhiza glabra* and *Glycyrrhiza uralensis*. *The Korean society of medicinal crops science.* 2014 ; 22 : 169-70.
5. Lee SE, Lee JH, Park CG, Kim HD, Lee YJ, Seo HH, Jeong HS, Chang JK, Kim DH. Evaluation of the In vitro Activity of *Glycyrrhiza* Cultivar Roots. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 2019 ; 27(2) : 115-25.
6. Kim SK, Ryu MJ. Physiological activity of the *Glycyrrhiza uralensis* extracts as a cosmetic product. *Asian J Beauty Cosmetol.* 2017 ; 15(1) : 11-22.
7. Park EY, Park SJ, Lee JR, Jee SY, Byun SH, Kim SC. Cytoprotective effects of liquiritigenin, a component of licorice, against lead-induced cytotoxicity in PC-12 cells. *Kor J Herbol.* 2007 ; 22(2) : 17-24.
8. Seon MR, Park SY, Lim SS, Yoon JH, Kim JS. Isoangustone A isolated from the hexane/ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis* induces apoptosis and cell cycle arrest in DU145 human prostate cancer cells. *The convention of The Korean Society of Applied Pharmacology.* 2008 : 352-3.
9. Fenwick GR, Lutomski J, Nieman C. Licorice *Glycyrrhiza glabra* L.-Composition uses and analysis. *Food Chem.* 1990 ; 38 : 119-43.
10. Fu B, Liu J, Li H, Li L, Frank S.C, Lee Wang X. The application of macroporous resins in the separation of licorice flavonoids and glycyrrhizic acid. *J. Chromatogr. A.* 2005 ; 1089 : 18-24.
11. Shibata, S. and T. Saito. The chemical studies on the oriental plant drugs. XIX. Some new constituents of licorice root. 1, The structure of licoricidin. *Chem. Pharm. Bull.* 1968 ; 16 : 1932-6.
12. Somjen, D., E. Knoll, J. Vaya, N. Stern and S. STamir. Estrogen-like activity of licorice root



- constituents: glabridin and glabrene, in vascular tissues in vitro and in vivo. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 2004 ; 91 : 147–55.
13. Lee JY, Lee JH, Park JH, Kim SY, Choi JY, Lee SH, Kim YS, Kang SS, Jang EC, Han Y. Liquiritigenin, a licorice flavonoid, helps mice resist disseminated candidiasis due to *Candida albicans* by Th1 immune response, whereas liquiritin, its glycoside form, does not. *Int. Immunopharmacol.* 2009 ; 9 : 632–8.
  14. Kang YM, Kim W, Jin JS, Lee JH, Chang JK, Lee J, An HJ. The Comparative Study of Anti-allergic Effect by *Glycyrrhiza* New Varieties and Official Compendia. *Kor J Herbol.* 2020 ; 35(5) : 13–21.
  15. Kang YM, Kim W, Jin JS, Lee JH, Chang JK, Lee J, An HJ. The Comparative Study of Immunomodulatory Effect by *Glycyrrhiza* New Varieties and Official Compendia. *Kor J Herbol.* 2020 ; 35(6) : 11–9.
  16. Kang SH, Song YJ, Jeon YD, Kim DK, Park JH, Soh JR, Lee JH, Kitalong C, Kim W, An HJ, Chang JK, Lee J, Jin JS. Comparative Study of Anti-Inflammatory Effect on DSS-Induced Ulcerative Colitis Between Novel *Glycyrrhiza* Variety and Official Compendia. *Applied Sciences.* 2021 ; 11(4) : 1545.
  17. Dietz BM, Kang YH, Liu G, Egger AL, Yao P, Chadwick LR, Pauli GF, Farnsworth NR, Mesecar AD, van Breemen RB, Bolton JL. Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* inhibits menadione-induced DNA damage through induction of quinone reductase. *Chem Res Toxicol.* 2005 ; 18 : 1296–305.
  18. Venden Berg R, Haenen GR, Van den Berg H, Bast A. Applicability of an improved Trolox equivalent anti-oxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of anti-oxidant capacity measurements of mixture. *Food Chem.* 1999 ; 66 : 511–7.
  19. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agr. Biol. Chem.* 1987 ; 51 : 1333–8.
  20. Oyaizu M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr.* 1986 ; 44 : 307–15.
  21. Sharifi AM, Mousavi SH, Bakhshayesh M, Tehrani FK, Mahmoudian M, Oryan S. Study of correlation between lead-induced cytotoxicity and nitric oxide production in PC12 cells. *Toxicol. Lett.* 2005 ; 160 : 43–8.
  22. Kumaran A, Karunakaran RJ. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food sci Technol.* 2007 ; 40 : 344–52.
  23. Meir S, Kanner J, Akiri B, Hadas SP. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J Agric Food Chem.* 1995 ; 43 : 1813–15.
  24. Kim KS, Ryu MJ. Physiological activity of the *Glycyrrhiza uralensis* extracts as a cosmetic product. *Asian J Beauty Cosmetol.* 2017 ; 15 : 11–22.
  25. Chen X, Liu Z, Meng R, Shi C, Guo N. Antioxidative and anticancer properties of licochalcone A from licorice. *J of Ethnopharmacol.* 2017 ; 198 : 331–7.
  26. Kim YC, Chung SK. Reactive oxygen radical species scavenging effects of Korean medicinal plant leaves. *Food science and Biotechnology.* 2002 ; 11 : 407–11.
  27. Cho HJ, Lim SS, Lee YS, Kim JS, Lee CH, Kwon DY, Yoon JH. Hexane/ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis* licorice exerts potent anti-inflammatory effects in murine macrophages and in mouse skin. *Food Chemistry.* 2010 ; 121 : 959–66.
  28. Sohn EJ, Kang DG, Lee AS, Lee YM, Yin MH, Yeum KB, Noh SY, Lee HS. Antioxidant activities of Glycyrrhizin and its effect on renal expression of Na,K-ATPase in Gentamicin-induced acute renal failure rats. *J of Physiology and pathology in Korean Medicine.* 2003 ; 17(2) : 542–8.
  29. Dong Y, Zhao M, Zhao T, Feng M, Chen H, Zhuang M, Lin L. Bioactive profiles, antioxidant activities, nitrite scavenging capacities and protective effects on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-injured PC12 cells of *Glycyrrhiza Glabra*. L. leaf and root extracts. *Molecules.* 2014 ; 19 : 9101–13.
  30. Belinky PA, Aviram M, Fuhrman B, Rosenblat M, Vaya J. The antioxidative effects of the isoflavan glabridin on endogenous constituents of LDL during its oxidation. *Atherosclerosis.* 1998. 137 : 49–61.
  31. Annual report of cancer statistics in Korea in 2017. National Cancer Information Center. 2019. <https://www.cancer.go.kr/lay1/S1T639C640/contents.do>
  32. Kim JN, Kim BJ. 18 $\alpha$ -Glycyrrhetic acid induces apoptosis of AGS human gastric cancer cells. *Herbal formula science.* 2020 ; 28 : 63–70.
  33. Zhang Z, Feng Y, Li ZY, Cao XZ. Antiproliferative and apoptotic activity of glycyrrhizic acid in MCF-7 human breast cancer cells and evaluation of its effect on cell cycle, cell migration and m-TOR/PI3K/Akt signalling pathway. *Arch Med Sci.* 2019 ; 16 : 174–82.
  34. Park JH, Wu Q, Yoo KH, Yonh HI, Cho SM, Chung IS, Baek NI. Cytotoxic effects of flavonoids from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* on human cancer cell lines. *J. appl. Biol. chem.* 2011 ; 54 : 67–70.
  35. Zhang X, Yang H, Yue S, He G, Qu S, Zhang Z, Ma B, Ding R, Peng W, Zhang H, Yang Z, Dou K, Tao K, Li X. The mTOR inhibition in concurrence

- with ERK1/2 activation is involved in excessive autophagy induced by glycyrrhizin in hepatocellular carcinoma. *Cancer medicine*. 2017 ; 6(8) : 1941–51.
36. Park SY, Kwon SJ, Lim SS, Kim JK, Lee KW, Park JHY. Licoricidin, an active compound in the hexane/ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis*, inhibits lung metastasis of 4T1 murine mammary carcinoma cells. *Int. J. Mol. Sci*. 2016 ; 17(6) : 934.
37. Song X, Yin S, Zhang E, Fan L, Ye M, Zhang Y, Hu H. Glycycoumarin exerts anti-liver cancer activity by directly targeting T-LAK cell-originated protein kinase. *Oncotarget*. 2016 ; 7(40) : 65732–43.