

막걸리 분획물에 의한 암세포 성장 억제 및 Quinone Reductase 활성 증가 효과

신미옥 · 강대연 · 김미향 · 배송자[†]

신라대학교 식품영양학과, 마린-바이오 산업화지원센터

Effect of Growth Inhibition and Quinone Reductase Activity Stimulation of *Makgeoly* Fractions in Various Cancer Cells

Mi-Ok Shin, Dae-Yeon Kang, Mi-Hyang Kim, and Song-Ja Bae[†]

Dept. of Food and Nutrition, Marine Biotechnology Center for Biofunctional Material Industries, Silla University, Busan 617-736, Korea

Abstract

In this study, we investigated the anticancer activity of *Makgeoly* (MG). MG was fractionated into four fractions by using solvent partition method, affording hexane (MGH), methanol (MGM), butanol (MGB) and aqueous (MGA) soluble fractions. We determined the cytotoxicity of these four fractions in four kinds of cancer cell lines, such as HepG2, MCF-7, B16-F10 and HT29 by MTT assay. Among the various fractions, the MGM showed the strongest cytotoxic effects on all cancer cell lines. The morphological changes such as membrane shrinking and blebbing of cells were also observed by MGM treatment in HepG2 cell. In addition, we observed quinone reductase (QR) activity stimulating effects in all fraction layers of MG on HepG2 cells. QR activity increased approximately 2.6 and 2.1 times in MGM and MGH treated HepG2 cell at 100 µg/mL, respectively, compared to that in control value. Although further studies are needed, the present work could suggest that the fin of MG has a potential to be used as a chemopreventive agent against cancer.

Key words: cytotoxicity, quinone reductase, *Makgeoly* (MG)

서 론

암에 의한 사망률이 계속 증가하여 전 세계적으로 관심의 대상이 되고 있는 이즈음 치료상의 급진적인 진보에도 불구하고 전체 사망률은 저하되지 않고 있다. 이와 더불어 항암 치료 등의 화학 치료에 의한 여러 가지 부작용 등이 심각한 문제로 대두되고 있어 이에 따른 천연물 대체 요법 등 새로운 암 예방 물질의 개발에 의한 예방과 치료의 방향이 전환되고 있는 실정이다(1). 또한 최근에는 암의 발생과 전이, 암세포의 생리, 암의 진단과 치료에 대한 연구와 함께 식품을 비롯한 항암효과를 지니는 물질 검색을 통하여 새로운 암 치료제가 개발되고 있다(2). 암의 발병은 주로 식생활에 의한 불균형과 유전적 소질 및 주위환경 등이 주요 원인이 되고 있으며(3), 전 세계적으로 거의 모든 암 중의 35%가 부적절한 식이로 인한 발병으로 특히 대장암의 경우 발병자의 80% 이상이 식이가 주요 원인이라고 한다(4). 암의 화학적 예방에 대한 목적은 체내에서 발생하는 발암 과정을 중지시키거나 이미 암세포 쪽으로 변질되고 있는 세포를 다시 정상화시키고 또한 초기에 진행되고 있는 암이 침윤성 암으로 전환되는 과정을 막기 위해 비타민, 섬유질 및 미량 영양

소 등을 이용해서 장기간 복용하는 방법 등이 있다(5).

우리의 전통 민속주 막걸리는 예로부터 자가 생산하여 널리 이용하여 온 일종의 양조주로서 당화와 발효의 공정을 병행하여 만들어진 알콜성 음료이다(6). 알콜올 도수가 높은 술을 마시게 되면 곧 취하게 되고 간에 많은 부담을 주게 되나, 우리의 전통주인 막걸리는 알콜올 도수가 상대적으로 낮고 곡류를 이용한 발효식품으로서 위에 부담을 주지 않을 뿐 아니라, Yoo(7)에 의하면 양조장에서 생산되고 있는 막걸리는 에탄올이 약 8% 함유되어 있고 상당량의 단백질, 당질, 리보플라빈 및 각종 유용한 영양소를 함유하고 있다고 한다. 그리고 담금 후 누룩중의 미생물에 의한 효소작용으로 인한 원료성분이 분해되어 생성되는 당분, 아미노산, 유기산 등의 맛 성분과 효모나 젖산균 등의 미생물에 의한 알콜올 발효로 휘발성 풍미 성분이 생성되어 색과 함께 품질의 조화를 이루게 된다(8). 따라서 원료와 누룩을 달리하여 담근 막걸리의 품질특성이나 휘발성 향기성분에 대한 연구는 이미 많은 연구가 이루어져 있는 실정이나(9-13) 막걸리의 생리활성 및 기능성에 대한 연구로는 실험동물의 혈중지질 감소효과에 대한 연구(14)와 막걸리가 인체의 혈액성분에 미치는 효과에 대한 몇 연구만이 보고되어져 있다(6).

[†]Corresponding author. E-mail: sjbae@silla.ac.kr
Phone: 82-51-999-5462, Fax: 82-51-999-5687

본 연구에서는 막걸리를 시료로 하여 세포 성장 억제효과 및 quinone reductase(QR) 활성 증가효과를 측정함으로써 항 발암효과를 가진 기능성식품으로서의 대체 가능성 유무를 본 실험을 통해 타진해 보고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 막걸리는(Makgeoly, MG)는 부산탁약주협회에서 구입하였다. 세포실험에 사용된 시약 중 nonidet p-40(NP-40)과 menadione은 Sigma(St. Louis, USA)사 제품을 구입하였고 Dulbecco's Eagle modified medium (DMEM)과 fetal bovine serum(FBS), phosphate buffered saline(PBS) 등은 Gibco-BRL(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였으며 그 외 연구에 사용된 용매 및 시약은 특급을 사용하였다.

시료 및 분획물 제조

시료로 사용된 막걸리는 극성과 비극성 분획을 선별 추출하기 위하여 우선 회전식 진공농축기로 감압 농축시켜 막걸리 농축물(MG)을 얻었다. 이 농축물을 다이클로로메탄(CH₂Cl₂)과 물로 다시 분획하여 다이클로로메탄(CH₂Cl₂)층과 물층을 얻었으며, 다이클로로메탄(CH₂Cl₂)층을 헥산과 메탄올(1:1)용액으로 분획하여 헥산(MGH)과 메탄올(MGM) 분획층을 얻었고, 물층은 부탄올용매로 분획하여 다시 부탄올(MGB)과 수층(MGA)을 얻었다. 이들 각 분획층을 감압 농축하여 동결 건조한 후 그 분말을 만들어 시료로 사용하였다.

암세포 배양

본 실험에 사용한 암세포주는 대장암세포인 HT-29 (human colon adenocarcinoma)와 간암세포인 HepG2(human hepatocellular carcinoma), 유방암세포인 MCF-7(human breast adenocarcinoma pleural effusion)과 피부암세포인 B16-F10(mouse melanoma)으로서 2006년 5월 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, KCLB)에서 구입하여 배양시킨 후 실험에 사용하였다.

HT-29 세포주는 RPMI1640 medium, HepG2와 MCF-7, B16-F10 세포주는 DMEM medium을 사용하였고 medium은 10%의 fetal bovine serum(FBS)과 1% 100 units/mL penicillin streptomycin이 함유된 것으로 세포를 T-75 flask에 이식한 후, 37°C 5% CO₂ incubator에서 monolayer로 배양하였다.

암세포 독성 효과측정

막걸리 분획물의 암세포 성장 억제효과는 MTT(3-[4,5-dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay를 사용하여 실험하였다.

세포의 생육을 측정하는 방법으로서의 황색수용물질인

MTT가 미토콘드리아내의 탈수소효소 작용에 의하여 dark blue formazan을 생성하는 원리를 이용한 MTT assay (15,16)를 이용하였다. 이를 위해 각 세포주를 1×10⁵ cells/well의 농도로 맞추고 48 well에 각각 500 μL씩 첨가하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 용매종류별 분획물을 각각 일정량의 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 50, 100, 150, 200, 250 μg/mL의 농도로 첨가하였으며, 최종 DMSO의 농도는 0.2%로 조절하였다. 48시간 동안 배양 후 각 well에 PBS 완충용액에 녹인 MTT 용액을 100 μL씩 첨가하여 4시간 동안 다시 배양시켰다. Well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 제거하고 DMSO와 ethanol을 1:1로 혼합한 용액 1 mL를 첨가하여 천천히 녹인 후 multi-detection microplate를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군 세포수를 기준으로 하여 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

위상차현미경을 이용한 세포형태의 관찰

각각의 암세포주를 세포배양용 petri dish에 24시간 동안 안정화시킨 다음 막걸리 분획물을 20, 40, 60, 80, 100 μg/mL 씩 농도별로 처리하여 48시간 동안 배양한 후 현미경을 이용하여 200배의 배율로 각 농도에 따른 암세포의 형태변화를 관찰한 다음 Olympus DP70을 이용하여 촬영하였다.

Quinone reductase(QR) 활성 측정

QR은 간세포에서 주로 생성되는 phase II enzyme의 한 종류로 quinone을 환원시켜 무독하게 만들고 세포내에 유도되어 여러 돌연변이 물질에 의해 일어나는 돌연변이와 종양화를 막아주고 발암물질을 무독하게 만드는 역할을 한다(17).

본 실험에서는 Prochaska와 Santamaria의 방법(18)을 일부 변형하여 측정하였다. T-75 flask에 HepG2 세포가 80% 이상 증식하게 되면 24 well plate의 각 well에 1×10⁴ cells/mL 되도록 세포를 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양한 후 막걸리 분획물을 HepG2의 세포 생존율이 50% 되는 양을 최종 농도로 잡아 각각 DMSO에 녹여 40, 60, 80, 100 μg/mL의 농도로 첨가하고 다시 24시간 배양하였다. 배양액을 제거한 후 각 well에 250 μL의 lysis buffer(10 mM Tris-HCl pH 8.0, 14 mM NaCl, 15 mM MgCl₂, 0.5% NP-40)를 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에 10분간 두면서 cell을 lysis한 후 reaction mixture 즉, 10 mM Tris-HCl(pH 7.4), 0.5 mg/mL BSA, 0.008% tween-20, 40 μM FAD, 0.8 mM glucose-6-phosphate, 2 U/mL glucose-6-phosphate dehydrogenase, 25 μM NADP, 40 μg/mL MTT 및 1 mM menadione을 혼합하여 well에 1 mL씩 첨가하여 5분 동안 반응시킨 후, 반응정지 용액인 0.3 mM dicumarol, 0.5% pyridine, 5 mM potassium phosphate(pH 7.4) 혼합액을 250 μL씩 첨가하여 효소반응을 정지시키고 multi-detection microplate를 이용하여 610 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

단백질량은 동일한 set의 well plate에 대한 crystal violet 염색방법으로 정량하였다. 24 well plate에 2% ethanol에 녹인 0.2% crystal violet 용액을 150 µL씩 첨가하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 증류수로 세척하였다. 각 well에 50% 에탄올에 녹인 0.5% SDS 용액을 1 mL씩 가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 1시간 방치한 후 610 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quinone reductase 활성측정(nmol/min/mg protein)은 다음과 같이 하였다.

Specific quinone reductase (QR) activity

$$= \frac{\text{absorbance change of MTT/min}}{\text{absorbance of crystal violet}} \times 3345 \text{ nmol/mg}$$

통계처리

본 실험에 대한 실험결과는 3번 반복 실험하여 얻어진 평균치 및 표준편차를 나타내었다.

결과 및 고찰

막걸리의 각 용매별 분획물 수율

막걸리(1.5 L)를 회전식 진공농축기로 감압 농축시켜 막걸리 농축물(MG)을 얻었다. 이 농축물(MG) 22.67 g을 hexan, 메탄올, 부탄올 및 물로 용매 분획하여 hexan(MGH) 0.52 g, 메탄올(MGM) 0.32 g, 부탄올(MGB) 0.29 g 및 수층 분획물(MGA) 14.24 g을 얻었다. 각 시료의 용매별 분획방법과 수득율은 Fig. 1과 같다.

암세포 성장 억제효과

본 실험에서는 4종의 암세포주에 대한 막걸리 분획물의 암세포 성장 억제효과를 조사하기 위해 MTT assay를 행하였다. 실험에는 간암세포주인 HepG2, 피부암세포주인 B16-F10, 대장암세포주인 HT29 및 유방암세포주인 MCF-7가 사용되었으며, 실험결과는 Fig. 2, 3, 4 및 5에 나타내었다.

Fig. 2는 간암세포주인 HepG2에 대한 결과로 각 분획별 시료를 50, 100, 150, 200 및 250 µg/mL 첨가 시 농도 의존적으로 암세포 성장 억제효과를 보였고, 특히 메탄올 분획물의 경우 가장 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었다. 메탄올

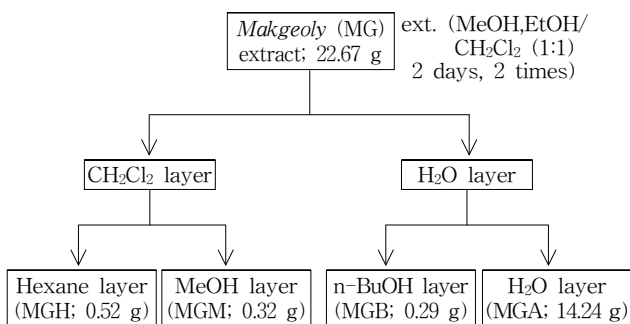


Fig. 1. Fractionation procedure of Makgeol (MG).

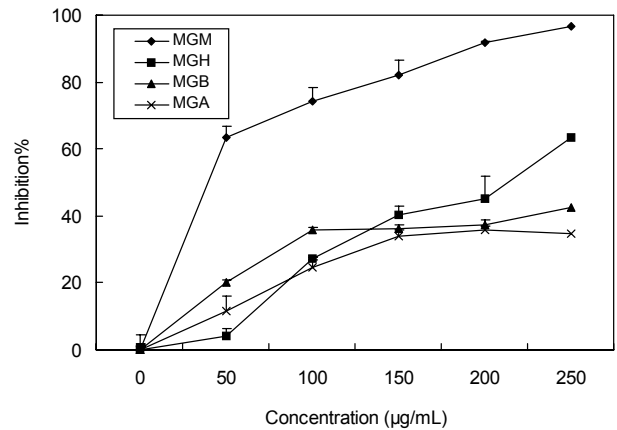


Fig. 2. Inhibitory effect of four fractions from Makgeol (MG) on the survival of HepG2 cell.

MGM: methanol partition layer of MG, MGH: hexane partition layer of MG, MGB: butanol partition layer of MG, MGA: aqueous partition layer of MG.

분획물 50 µg/mL 첨가했을 때 이미 63.57%의 암세포 성장 억제효과를, 그리고 250 µg/mL 첨가했을 때 96.51%의 매우 높은 암세포 성장 억제효과를 보였으며 다음으로 hexan 분획물에서는 최고농도인 250 µg/mL에서 63.44%의 억제효과 수치를 나타내었다. 그러나 부탄올 분획물과 수층 분획물에서는 최고 농도에서도 42.5%와 34.88%의 낮은 암세포 성장 억제효과만을 보였다.

Fig. 3은 피부암세포주인 B16F-10에 대한 결과로서 역시 메탄올 분획물에서 가장 높은 암세포 성장 억제효과를 보였으며, 최고 첨가농도인 250 µg/mL에서 96.41%의 억제효과를 나타내었다. 다음으로 효과적인 분획은 hexan 분획물이었으며 250 µg/mL에서 58.43%의 억제효과를 나타내었고, 부탄올 분획물과 수층 분획물에서는 HepG2에서와 같이 낮은 암세포 성장 억제효과를 보였다.

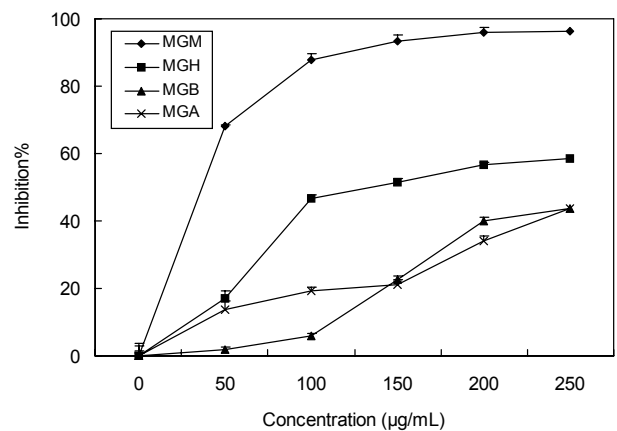


Fig. 3. Inhibitory effect of four fractions from Makgeol (MG) on the survival of B16-F10 cell.

MGM: methanol partition layer of MG, MGH: hexane partition layer of MG, MGB: butanol partition layer of MG, MGA: aqueous partition layer of MG.

Fig. 4는 대장암세포주인 HT29에 각 층별 시료 분획물을 가했을 때 암세포 성장 억제효과를 나타낸 그림으로 역시 메탄올 분획물에서 높은 암세포 억제효과를 보였고, 메탄올 분획물의 경우 낮은 농도인 50 µg/mL 첨가에서부터 이미 65.52%의 암세포 성장 억제효과를 나타내었고, 100 µg/mL 첨가했을 때 92.03%의 매우 높은 암세포 성장 억제효과를 보였으며 그 이상의 농도 150, 200 및 250 µg/mL에서도 농도 의존적으로 그 억제효과가 증가하여 각각 93.68, 95.79 및 95.98%의 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었다. 부탄올 분획물, 헥산 분획물 그리고 수층 분획물의 경우에는 그 효과가 미약하였고 최고 농도에서도 42.37%, 39.16% 및 31.05%의 낮은 효과를 보였다.

유방암세포주인 MCF-7에 대한 실험결과는 Fig. 5와 같으며 HepG2, B16F-10 및 HT29 세포주에서와 같이 메탄올

분획물에서 높은 성장 억제를 보였다. 메탄올 분획물은 낮은 농도인 50 µg/mL 첨가에서부터 이미 58.63%의 암세포 성장 억제효과를 나타내었고, 100 µg/mL 첨가했을 때 70.59%의 높은 암세포 성장 억제효과를 보였고 그 이상의 농도에서도 농도 의존적으로 그 억제효과가 증가하여 최고 첨가농도인 250 µg/mL에서 95.69%의 성장 억제효과를 나타내었다. 그러나 다른 분획물의 경우 최고 첨가 농도인 250 µg/mL에서도 매우 낮은 암세포 성장 억제효과를 보였다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 막걸리의 암세포 성장 억제효과는 실험에 사용한 모든 세포주 즉, HepG2, B16F-10, HT-29와 MCF-7에서 용매별로 분획한 4가지 막걸리 추출물중 메탄올 분획물이 가장 높은 암세포 성장 억제효과를 보였다. 그리고 HepG2와 B16F-10 세포주에서는 헥산 분획물에서도 50% 이상의 성장 억제효과를 보였으나 부탄올 분획물과 수층 분획물에서는 모든 세포주에서 45% 이하의 낮은 성장 억제효과를 나타내었다.

이와 같은 결과는 해양식물인 불등가사리(19), 참가사리(20) 등의 홍조류에서의 암세포 성장 억제효과와 유사한 결과이며, 특히 첨가 시료의 양은 육상식물인 적채, 쑥부쟁이(21,22) 등에 첨가한 시료량의 약 1/3정도에 해당되는 양으로서 낮은 농도에서도 높은 암세포 성장 억제효과를 나타낸 결과라 할 수 있다. 그리고 암세포 성장저지를 일으키는 막걸리의 생리활성 물질이 약한 극성물질이 녹아있는 분획층인 메탄올 분획물에 주로 많이 존재하는 것으로 볼 수 있으며, 이 층에서의 활성 물질 구조에 대한 분석과 암세포 성장을 저지시키는 물질의 존재가 주목되는 바이다. 앞으로 더욱 심도 있는 연구를 통해 이들 분획물의 생리활성 물질을 규명하고 구조 동정과 그 기전을 알아보고자 한다.

메탄올 분획물의 처리에 따른 암세포의 형태학적 변화

Fig. 6은 막걸리의 메탄올 분획물을 일정량의 HepG2 세포주에 첨가했을 때 각 세포주의 형태가 어떻게 변화하는지 알아보기 위하여, 여러 농도별로 시료를 첨가한 후 48시간 처리하고 위상차 현미경을 이용하여 암세포주의 괴사 형태를 관찰한 결과이다. 이 사진에서 관찰할 수 있듯이 메탄올 분획물의 농도 증가에 따라 암세포의 세포막과 세포질의 심한 형태적 변형이 일어났으며 저농도 처리군에서는 전체적으로 세포질이 응축되면서 짧고 많은 가지를 친 듯한 모양으로 바뀌었으며, 이러한 dendrite-like한 형태가 더욱 신장되면서 고농도 처리군에서는 암세포들의 부착력이 상실되어 세포들이 떠있음이 관찰되었고 파괴된 세포 잔여물들이 뚜렷이 관찰되었다. HepG2 세포주에서와 같이 다른 세포주에서도 거의 같은 경향을 보였다(data not shown). 이것으로 보아 암세포의 심한 형태적 변형의 정도는 막걸리 분획물의 처리에 따라 암세포 성장이 억제되었음을 보여준다고 할 수 있겠다.

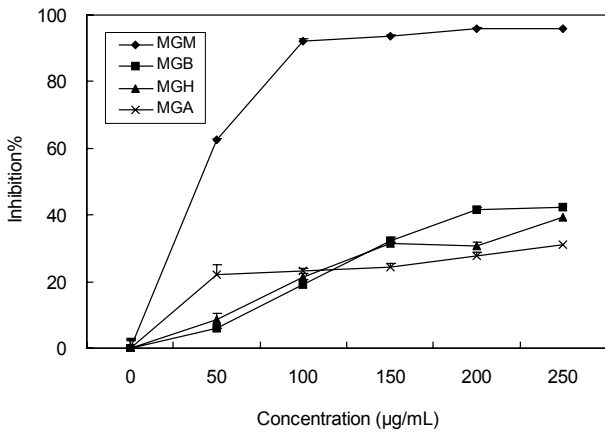


Fig. 4. Inhibitory effect of four fractions from *Makgeolli* (MG) on the survival on HT-29 cells. MGM: methanol partition layer of MG, MGH: hexane partition layer of MG, MGB: butanol partition layer of MG, MGA: aqueous partition layer of MG.

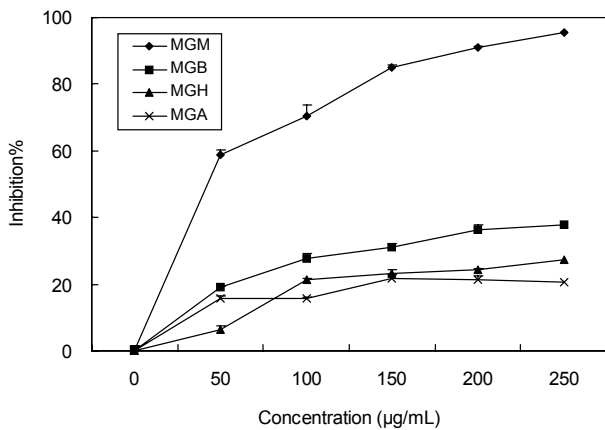


Fig. 5. Inhibitory effect of four fractions from *Makgeolli* (MG) on the survival on MCF-7 cells. MGM: methanol partition layer of MG, MGH: hexane partition layer of MG, MGB: butanol partition layer of MG, MGA: aqueous partition layer of MG.

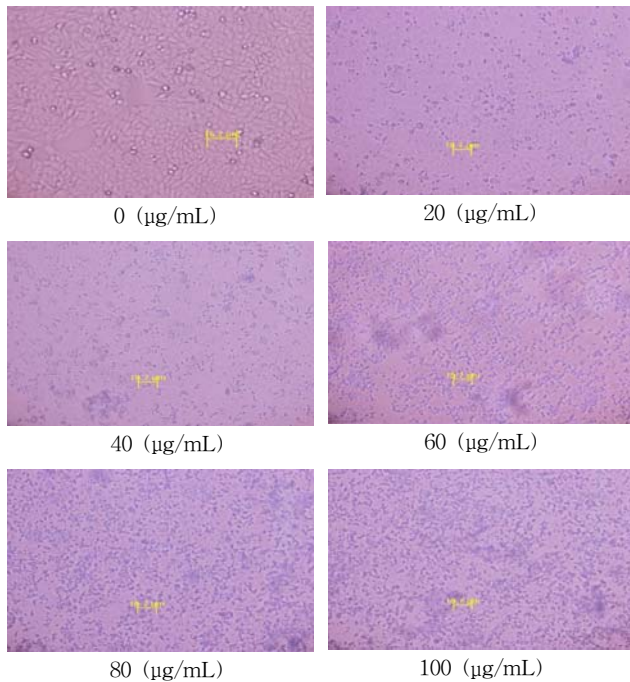


Fig. 6. Morphological changes of HepG2 human hepatocellular carcinoma cells treated with MGM.

Cells were treated with MGM at various doses for 48 h and taken picture ($\times 200$). MGM: methanol partition layer of MG.

Quinone reductase 활성 증가 효과

Quinone reductase(QR)는 phase II 효소계의 지표효소로서 다양한 종류의 항암물질에 의해 그 활성이 유도되어 암 예방을 선도하는 특성을 가지고 있으므로 암 예방 물질의 탐색에 많이 사용되어 왔다(21). QR 유도 물질 탐색은 인체 암세포 배양법으로 행해졌으며, 암세포 성장 억제효과에 사용된 4종의 암세포주 중 유일하게 quinone reductase를 가지고 있는 간암세포 HepG2를 사용하여 QR 활성 증가 효과를 측정하였으며, 그 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 즉, HepG2 세포주에 각 용매별 시료 분획물을 첨가했을 때 앞의 암세포 성장 억제효과의 결과에서와 마찬가지로 메탄올 분획물에서 가장 높은 QR 활성이 나타났고 그 다음으로는 hexan 분획물이었다. 메탄올 분획물의 경우 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리 시 대조군에 비하여 QR 활성이 각각 1.75, 2.03, 2.20 및 2.55배로 증가하였고, 농도 의존성을 보였다. 다음으로 hexan 분획물의 경우에는 각각 1.71, 1.82, 1.92 및 2.06배 효과를 나타내었고, 부탄올 분획물과 수층 분획물에서는 최고 농도 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 다소 낮은 1.67배와 1.46배의 효과를 나타내었다.

이러한 결과는 여러 해조류 분획물들(19,20,22)에 비해서는 다소 낮은 QR 활성 효과에 해당되나 해양생물인 키조개(23)에서의 QR 활성 증가 효과와 유사한 결과를 할 수 있다. 이상의 결과에서 메탄올 분획물에 QR 활성을 증가시키는 물질이 가장 많이 존재함을 추정할 수 있었고 앞으로 더욱더

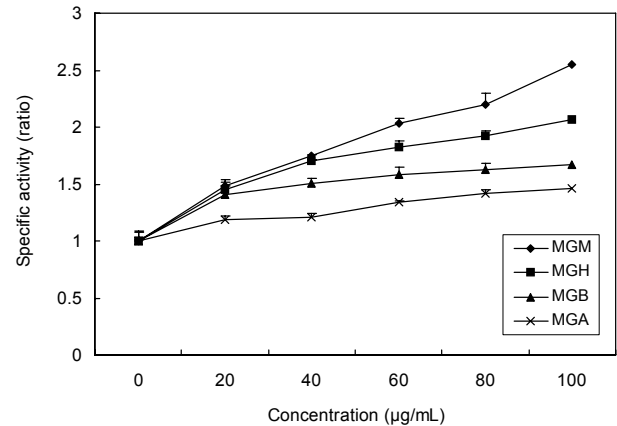


Fig. 7. Effect of four different fractions from Makgeolry (MG) on the quinone reductase in HepG2 cells.

Cells were cultured at a starting density of 1×10^4 cells/mL in DMEM. MGM: methanol partition layer of MG, MGH: hexane partition layer of MG, MGB: butanol partition layer of MG, MGA: aqueous partition layer of MG.

심도 있는 연구를 통해 막걸리 분획물중의 생리활성 물질을 추적, 보완하여 그 구조를 동정함으로써 식품산업에 있어서의 암 예방효과를 지닌 기능성식품 개발에 매우 중요한 자료가 될 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

막걸리의 암 예방효과를 알아보기 위하여 막걸리 농축물을 hexan, 메탄올, 부탄올 및 물로 순차적으로 분획하여 각 분획별로 암세포에 대한 성장 억제효과와 암 예방 지표인 QR활성 증가 효과를 측정하였다. 그 결과 메탄올 분획물의 경우 낮은 농도의 시료첨가에도 불구하고 괄목할 만한 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었으며 4종의 모든 암세포주 HepG2, B16-F10, HT29 및 MCF-7에서 농도 의존적인 암세포 성장 억제효과를 나타내었다. 또한 HepG2에서 측정된 QR활성 증가 효과에 있어서도 메탄올 분획물이 가장 높은 QR활성 증가 효과를 보여 암에 대한 예방효과가 기대된다. 따라서 앞으로 막걸리를 이용하여 항암관련 기능성식품을 개발할 수 있는 가능성이 보이며, 이를 위하여 특히 메탄올 분획물에 대한 집중적인 연구가 요구된다.

문 헌

1. Stavric B. 1994. Role of chemopreventiers in human diet. *Clin Biochem* 27: 319-332.
2. Reddy L, Odhav B, Bhoola KD. 2003. Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacol Ther* 99: 1-13.
3. Wynder EL, Gori GB. 1997. Contribution of environment to cancer medicine. *J Natl Cancer Inst* 58: 826-832.
4. Doll R, Peto R. 1981. The cause of cancer. Quantitative estimates of available risks of cancer in the United States

- today. *J Natl Cancer Inst* 66: 1192-1308.
5. Banner SE, Pastorino U, Lippman SM, Hong WK. 1994. Second international cancer chemoprevention conference. *Cancer Res* 54: 854-859.
 6. Lee SH, Joo JS. 1985. Nutritional influence of *Takju* (Korean rice wine) on human body. *J Ko Rae Univ* 22: 17-32.
 7. Yoo TJ. 1981. *Korean famous wine*. Central New Book, Seoul, Korea. p 96.
 8. Lee JS, Lee TS, Park SO, Noh BS. 1996. Flavor components in mash of *takju* prepared by different raw materials. *Korean J Food Sci Technol* 28: 316-323.
 9. Lee JS, Lee TS, Park SO, Noh BS. 1996. Quality characteristics in mash of *takju* prepared by different raw materials. *Korean J Food Sci Technol* 28: 330-336.
 10. Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. 1996. Volatile flavor components in mash of *takju* prepared by using different *nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 29: 563-570.
 11. Han EH, Lee TS, Noh BS, Lee DS. 1997. Quality characteristics in mash of *takju* prepared by using different *nuruks* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 29: 555-562.
 12. Shin KR, Kim BC, Yang JY, Kim YD. 1999. Characterization of *yakju* prepared with yeasts from fruits (volatile components in *yakju* during fermentation). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 794-800.
 13. Shin KR, Kim BC, Yang JY, Kim YD. 1999. Characterization of *yakju* prepared with yeasts from fruits (quality characteristics of *yakju* during fermentation). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 801-804.
 14. Kim MH, Kim WH, Bae SJ. 2001. The effect of *Makkoli* on serum lipid concentration in male rats. *J Nat Sci Silla Univ* 9: 73-84.
 15. Alley MC, Scudiero DA, Monks A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, Abbrott BJ, Mayo JG, Shoemaker RH, Boyd MR. 1988. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell line using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res* 48: 589-601.
 16. Carmichael J, De Graff WG, Gazder AF, Minna JD, Mitchell JB. 1987. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936-942.
 17. Steinkellner HS, Rabot C, Freywald E, Nobis G, Scharf M, Chabicovsky S, Knasmüller S, Kassie F. 2001. Effects of cruciferous vegetable and their constituents on drug metabolizing enzymes involved in the bioactivation of DNA-reactive dietary carcinogens. *Mutat Res* 48: 285-297.
 18. Prochaska HJ, Santamaria AB. 1988. Direct measurement NAD(P)H:quinone reductase from cells cultured in microtiter wells: A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducer. *Anal Biochem* 169: 328-336.
 19. Park SY, Jung BM, Choi YH, Bae SJ. 2005. Growth inhibition effects of cancer cell lines by *Gloiopeltis furcata* fractions *in vitro*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 771-775.
 20. Jung YH, Jung BM, Shin MO, Bae SJ. 2006. A study on the effects of anticarcinogenic activity of *Gloiopeltis tenax*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 395-401.
 21. Park YJ, Jeon KH, Kim SH, Bae SJ. 2004. The effect on antimicrobial and cytotoxicity of *Brassica oleracea* L. fractions. *J Life Sci* 14: 567-572.
 22. Jung BM, Lim SS, Park YJ, Bae SJ. 2005. Inhibitory effects on cell survival and quinone reductase induced activity of *Aster yomena* fractions on human cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 8-12.
 23. Park YJ, Shin MO, Lee SH, Bae SJ. 2005. The growth inhibitory effects of *Atrina pectinata* fractions on cancer cell lines. *Korean J Nutrition* 38: 307-312.

(2007년 12월 12일 접수; 2008년 2월 15일 채택)