

합환근의 항산화효과와 간암세포에 대한 세포독성

강병수 · 이갑득*

동국대학교 한의과대학 본초학교실, 동국대학교 자연과학대학 화학과

Cytotoxic Activities and Antioxidative Activities Against Liver Cancer Cell of *Albizzia* root

Byung-SOO KANG and Kap Duk LEE*

Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Kyongju 714, Korea

*Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Dongguk, University, Kyongju 714, Korea.

(Received December 2, 2002 ; accepted December 14, 2002)

Abstract – To find new inhibitory effects from oriental drugs, *Albizzia* root was extracted in methanol and the extracted was stepwisely fractionated by hexane, chloroform, ethylacetate, butanol and water. In cytotoxic effect of *Albizzia* root fractions against caner cell lines including human hepatoma cells(HepG2) were investigated. Expecially the butanol fraction exhibited a inhibition effects on the growth of human hepatoma cells (HepG2). It inhibited of HepG2 cells with the value of IC50. The activities of qutathione after B(a)P treatment were markedly decreased than control, but those levels were increased by the treatment of *Albizzia* root methanol fraction. The activity of glutathione-S-transferase after B(a)P treatment were markedly decreased than control, but those levels were increased by the treatment of *Albizzia* root methanol fraction. Induction of phase II enzymes is a major mechanism of chemoprevention. The induction levels of quinone reductase(QR) activity in cultured murine hepatoma(Hepa 1c1c7)cell by methanol extract of *Albizzia* root were measured. Among the tested fractions, the extracts of butanol were found to induce QR activities over 2.8 fold than control. These results suggest that *Albizzia* root has chemopreventive Potential by inducing QR activities and GST levels and increasing GSH

Key words □ *Albizzia* root, organ toxicity, chemopreventive potential, gutathione, quinone reductase, glutathione s-transferase

1. 서 론

인체종양의 발생 원인 중 85%는 식생활, 흡연, 바이러스, 알코올 및 약물 등이 알려져 있다(Doll, 1992). 이러한 암 발생 억제제를 위해서 암 예방이 중요하다. 암을 예방하기 위해서는 최종 발암대사 물질의 활성을 감소시키거나 형성을 차단시킴으로서 암화 과정을 억제할 수 있다(Tanaka *et al.*, 1993). 이러한 발암작용을 다양한 기작에 의해 차단시키는 특징을 이용하여 암을 예방할 수 있는 물질이 개발되어 왔다(Wattenberg, 1997).

항암기작 중 가장 중요한 것으로서 quinone reductase (QR)생성, glutathione S-transferase (GST), gutathione (GSH)생성 등의 측정이 있다(Sharma *et al.*, 1994). QR은 동물세포 내에서 quinone 화합물을 hydroquinone으로 무

독화 시키는 효소로서 여러 anticarcinogen들에 의해서 GST 등의 다른 phase II enzyme들과 함께 유도된다(Wattenberg, 1985 ; Tallaly *et al.*, 1987). GSH는 동물 세포내에서 다양한 기능을 가지고 있으며 외부에서 독성물질이 세포내에 침입할 경우 직접반응 또는 GST에 의해 촉매된 효소적 반응에 의해 생긴 친전자성 화합물과 결합하여 무독화 시키는 역할을 하고 있다. GSH의 친전자적인 성질은 외부물질이 DNA와 결합하여 암을 유발하는 것을 막아주는 역할을 하며 GST는 free radical를 파괴하여 높은 반응성을 가진 산소로부터 세포를 보호할 수 있다고 보고되어 있다(Boylard and Chasseud, 1979).

콩과(Leguminosae)에 속한 자귀나무(*Albizzia julibrissin* Durazz)의 껍질은 합환피라 칭 하며, 뿌리껍질은 합환근이라 한다. 합환피는 신농본초경 중품에서는 합환·미감평·주안오장·이심지·영인환락무우·구복경신명목·독소육생산곡이라 하였고(오선과 술자, 1994), 본초강목

*To whom correspondence should be addressed.

에서는 소용중·속근콜 이라고 보고되어 있다(이시진, 1982).

합환피는 항종양, 항진균작용(이경순, 1986) 및 물추출물이 결장암 세포 성장을 80% 이상 저해효과가 있음을 보고 하였다(이성우, 2000).

그러나 합환근에 대한 항암 효능은 보고된 바 없다. 본 연구에서는 합환근으로 부터 암 예방효과의 기전을 살펴보기 위하여 GSH 및 GST의 활성을 측정하였으며 또한 암 세포주를 이용하여 대표적 phase II계 효소이면서 암 예방물질 탐색의 지표가 되는 효소로 잘 알려져 있는 quinone reductase 활성 유도를 조사함으로써 합환근의 암 예방효과를 뒷받침하고자 한다.

2. 재료 및 방법

재료 및 시료조제

경주 일원에서 15년생 자귀나무뿌리의 껍질(합환근)을 건조하여 사용하였다. 건조된 합환근은 분쇄기로 600×g에서 15분 동안 분쇄한 다음 10배의 메탄올을 가하여 실온에서 48시간 침지시킨 다음 추출, 3회 반복하였다. 이 추출물을 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 물순으로 추출한 후 여액을 감압 농축시킨 다음, 동결건조하여 각 분획별 추출물을 제조하였다.

실험 동물

실험 동물은 평균체중이 25~30 g인 ICR계 웅성 마우스를 사용하여 온도(18±2°C, 습도), 습도(65±2%), 명암주기(12시간)가 자동적으로 조절되는 사육실에서 7일간 일반시료로 예비사육하여 환경에 적응시킨 후 난괴법에 따라 각 군 당 10마리씩 4군으로 구분하여 실험하였다. 합환근 메탄올 추출물은 마우스 kg 당 250 µg 수준으로 5일간 1일 1회 일정시간에 복강 주사 하였으며 벤조피렌

Table I. Experimental groups

Group	<i>Albizzia</i> root methanol extract	Benzo(a)pyrene
C	-	-
S	+	-
B	-	+
SB	+	+

Micc were intraperitoneally injected with *Albizzia* root methanol extract (250 µg/kg) once a day for 5 days. Benzo(a)pyrene (0.5 mg/kg) was intraperitoneally injected on the fifth day.

C group: This group was not treated with sample extract and B(a)P.

S group: This group was treated with sample extract.

B group: This group was treated with B(a)P.

SB group: This group was treated with sample extract and B(a)P.

은 시료를 투여한 다음 5일째에 체중 kg 당 0.5 mg 수준으로 1 회 복강 내로 투여하여 간 독성을 유발하였다. 실험군의 처리방법은 Table I과 같다.

암세포주 및 배양

실험에 사용한 세포주는 암세포로 사람의 간암세포 HepG2 (hepatoma cell, human)를 사용하였다. HepG2 세포는 DMEM 배지에 10% FBS, 1% antibiotics을 첨가하여 배양하였으며 37°C의 5% CO₂에 적응시켜 배양하였으며 2~3일마다 계대배양 하면서 실험에 사용하였다.

세포독성 측정

합환근 추출물 및 분획물들의 세포독성 효과는 Green (1984)의 방법에 의하여 96well plate에 24시간 배양한 세포에 각 농도의 시료를 2 µl씩 첨가하여 48시간 배양하였다. 배양액에 MTT 0.5 mg/ml시약을 각각 첨가하여 4시간 배양한 후 상등액을 제거한 다음 각 well에 DMSO 200 µl를 가한 후 microplate reader(Bio-Red Co.)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포독성(Cytotoxicity index: ID)는 다음과 같은 식으로 계산하여 세포 성장 저해 효과의 지표로 하였다.

$$I.D.(%) = \frac{[(\text{대조군의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도}) / \text{대조군의 흡광도}] \times 100}{}$$

흡소원의 조제

실험동물은 처치 전 12시간 동안 물만 주고 식이 공급을 중단 하였으며 B(a)P 투여 24시간 후 에테르로 마취시켜 복부 중앙선을 따라 개복한 다음 적출한 간은 생리 식염수로 여러번 세척한 후 흡습지로 수분을 완전히 제거한 다음 간 조직의 무게를 평량하였다. 간 조직은 g 당 4배의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH7.4)를 가하여 빙냉 하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하여 간 균질액(20%, v/v)을 제조하여 glutathione함량 측정에 사용하였으며 또한 이 간 균질액을 4°C 600×g에서 10분간 원심분리한 후 상층액만을 4°C 10,000×g에서 20분간 원심 분리하여 형성된 침전물을 0.1 M potassium phosphate buffer에 재 현탁한 다음 상층액을 다시 4°C 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리한 cytosol 분획은 glutathione S-transferase 활성 측정에 사용하였다.

간 조직중의 Gutathione (GSH) 및 Glutathione S-transferase(GST)의 함량 측정

간 조직 내 GST의 활성은 Habig(1974)방법, glutathione 함량은 Ellman (1959) 방법에 준하여 측정하였으며, 단백질 함량은 Bradford(1980)방법으로 측정하였다

Quinone reductase 유도 활성 측정

암세포주 및 배양

Hepa 1c1c7 (mouse hepatoma cell) 세포를 10% FBS를 함유하는 α -MEM 배지에서 배양하였다. 세포는 1회용 세포배양 plate (100 cm², corning)에서 monolayer로 자라게 하였으며, 배양 온도 및 CO₂ 농도는 37°C, 5% CO₂ 로 유지하였다.

QR 유도활성 측정

Hepa 1c1c7 세포를 배양 plate (55 cm²)에 3×10⁴/ml 농도로 분주하고 48시간 배양한 다음, 시료를 첨가하여 24시간 더 배양하였다. 배양이 완료되면 배지를 제거하고 PBS로 5 ml씩 3회 반복하여 세척하였다. 배양 plate에 0.25 M sucrose 용액 1 ml을 가하고, cell scraper를 이용하여 세포를 수집하고 ultra sonic cell disrupter (50W, Kontes)에서 세포를 균질화 하였다. 세포 균질액을 원심 분리(1000×g, 10분)하여 얻은 상층액을 QR 효소활성과 단백질 함량 측정에 사용하였다.

QR 효소활성은 Benson(1980)의 방법에 따라 2,6-dichlorophenollindophenol (DCPIP)을 환원시키는 정도를 측정하여 나타내었다. 즉, 반응액 3 ml에 25 mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.7 mg BSA, 0.01% Tween 20, 5 μ M FAD, 0.2 mM NADH, 또는 10 μ M dicumarol, 0.2 ml 세포균질액을 혼합하여 제조하였다. 여기에 40 μ M DCPIP를 첨가하여 600 nm에서 2분 동안 scanning을 수행하였다. QR 효소활성은 1분간 감소되는 흡광도와 DCPIP의 분자 흡광 계수(2.1×10⁴ M⁻¹cm⁻¹)로부터 환원된 DCPIP의 양을 계산하고 세포 균질액의 단백질 함량을 측정하여 nmoles DCPIP reduced/min/mg protein으로 나타내었다. 세포 균질액의 단백질 함량은 Bradford (1980)방법으로 측정하였다.

통계처리

대조군과 각 시료에 대한 실험결과는 SAS를 이용한 Duncan's multiple range test로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

암세포 성장 저해 효과

Cell proliferation과 cytotoxicity를 *in vitro*에서 분석하는데 매우 유용하게 사용되어온 MTT assay는 주로 암의 기초연구에 이용되고 있다. 따라서 MTT assay에 의한 합환근 추출물과 그 분획물들이 사람의 간암세포인 HepG2에 대한 증식억제 효과를 검색하였다. 먼저 합환근 메탄올 추출물의 HepG2에 대한 결과는 Fig. 1에서와 같이 5-100 μ g/ml의 농도에서 52-89%의 높은 억제 효과

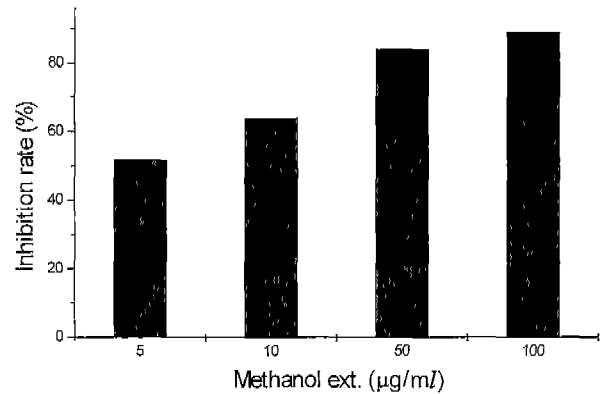


Fig. 1. Inhibitory effects of methanol extract of *Albizzia* root on the growth of HepG2 cells. The values are mean±S.D. (n=5)

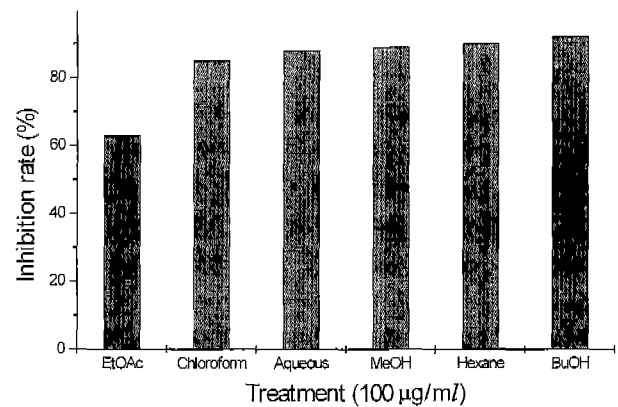


Fig. 2. Inhibitory effects of solvent fractions from methanol extract of *Albizzia* root on the growth of HepG2 cells. The values are mean±S.D. (n=5).

를 나타내었다. 특히 5 μ g/ml의 낮은 농도에서 52%의 암세포 증식 억제 효과를 보였다.

따라서 메탄올 추출물로부터 극성순으로 분리한 분획물에 대한 증식 억제 효과를 검토하였다. Fig. 2에서와 같이 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물 모두에서 높은 저해 효과를 보였으며 특히 butanol 분획물에서 92%의 암세포 증식 억제 효과를 보여 가장 높은 경향을 나타내었다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 합환근은 암세포에 대한 증식 억제 효과가 있으므로 합환근을 이용하여 암 예방에 대한 효과를 확인하였다.

간조직 중의 Glutathione 함량 변화

Glutathione(GSH)는 세포내 다양한 기능을 가지고 있어 특히 독성물질을 제거한다. 외인성에 의한 대부분의 화학물질은 cytochrome p-450-dependent monooxygenase system에서 대사 되어 전자 친화적 물질, epoxides 또는 매우 독성이 강한 물질이 된다(Molders and Jernestion,

Table II. Effect of *Albizzia* root methanol extract on the hepatic contents of glutathione (GSH) and glutathione-S-transferase (GST) activities in B(a)P treated mice

Group	GSH ¹⁾	GST ²⁾
C	10.77 ± 0.50b	122.67 ± 2.00b
B	6.86 ± 0.56c	100.20 ± 7.42c
S	12.16 ± 0.65a	144.48 ± 6.73a
SB	10.94 ± 0.40b	123.98 ± 1.66b

Values are mean ± S.D. (n=10).

Values followed by the same superscript letter are not significantly different each other ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

GSH¹⁾: μ moles/mg protein

GST²⁾: Formed thioether nmole/mg protein/min

C: Control group. B: B(a)P group.

S: *Albizzia* root methanol extract.

SB: *Albizzia* root methanol extract group+B(a)P group.

1983). 이 물질은 GSH와 직접 결합하거나 Glutathione S-transferase의 촉매에 의해서 결합하기도 한다. 이 반응들은 무독성과정에서 세포내에 GSH가 고갈되면 독성이 강한 대사물질이 만들어져 세포내 손상을 유발시키고 mutagenesis, carcinogenesis를 일으킨다(Mitchell, *et al.*, 1976).

합환근 메탄올 추출물을 마우스복강에 일정시간 주사한 다음 벤조피렌을 복강 내로 투여하여 간 독성을 유발하여 GSH의 활성을 조사하였다.

GSH 함량은 B(a)P만 투여한 군이 대조군에 비해 현저히 감소되었으며, 합환근 메탄올 추출물과 B(a)P를 투여한 군은 B(a)P만 투여한 군에 비하여 현저히 증가하는 경향을 나타내었다(Table II). 이는 벤조피렌에 의해 GSH 함량이 대조군에 비하여 감소하였으며(김명주, 1991), 목이버섯 메탄올 추출물과 벤조피렌을 투여한 군은 벤조피렌만 투여한 군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었다는 보고와 일치하였다(Jong, *et al.*, 1998). 이것은 벤조피렌 투여시 GSH를 기질로 사용하여 과산화수소를 제거하는 GSH-Px의 활성증가로 인해 GSH 소모가 증가된 것으로 사료되며 합환근 메탄올 추출물을 투여함으로써 생성된 과산화수소량이 적어 GSH-Px의 소모량이 줄어들므로써 GSH의 소모량도 감소되어 그 함량이 벤조피렌 단독 투여군보다 증가하여 나타난 것으로 사료된다.

간 조직중의 Glutathione S-transferase의 활성변화

항암효소인 glutathione S-transferase(GST)는 생체의 전 조직에 존재하며 특히 간에 많다(토전성기 와 좌동청미, 1988). GST의 체내 중요한 역할 중의 하나는 친전자성 발암물질의 활성 대사산물의 해독작용으로서 B(a)P 이 체내에 산화되어 생성된 diepoxide가 세포내 gluta-

thione과 포합체 형성시 GST가 반응을 촉진하고 포합체는 신속하게 배설되어 해독된다고 알려져 있다(Sakamoto and Kinoshita, 1988). 간 조직중의 GST의 활성 변화는 Table II과 같다. B(a)P 단독 투여시 대조군에 비하여 감소하였으며, 합환근 메탄올 추출물과 B(a)P를 투여한 군은 대조군과 거의 비슷한 수준으로 효소 활성이 증가하였다. 이와 같은 결과로 정상군에 비해 간 손상군의 경우 간 조직중의 GST의 활성이 유의적으로 낮았으며 고 들빼기를 투여한 군에서는 유의적으로 증가하였으며(배송자 등, 1977), 구기자 성분인 비테인을 투여함으로써 사염화탄소로 저하된 GST의 활성이 유의적으로 증가하였다는 보고도 있다(김선여 등, 1993). 이러한 연구결과로 보아 합환근 메탄올 추출물이 GST의 활성을 증가시켜 독성물질을 체외로 배출하여 해독작용을 한 것으로 사료된다.

Quinone reductase 활성 유도 효과

합환근의 암 예방 유도여부를 조사하기 위하여 생쥐의 간암세포 Hepa 1c1c7에서 합환근 메탄올 추출물과 각 분획물들에 의한 암 세포성장 저해효과와 phase II enzyme인 QR 생성유도 효과를 검토하였다.

암세포 성장 저해 효과

먼저 Hepa 1c1c7 세포에 대한 합환근 메탄올 추출물의 세포독성을 알아보고자, 추출물 시료를 10~100 μ g/ml 농도로 첨가하여 2일간 배양한 후 세포독성을 측정할 결과, 농도가 증가함에 따라 생존 세포 수가 다소 감소하였으나 낮은 세포독성을 나타내었다.

세포독성 실험은 시료자체의 세포독성을 관찰할 뿐만 아니라 세포독성을 나타내지 않는 최대 시료농도를 결정하기 위하여 수행하였으며 실험 결과 시료농도 10 μ g/ml에서는 세포독성이 거의 나타나지 않았으므로 시료의 QR 유도활성 실험에 사용할 농도를 10 μ g/ml로 정하였다.

QR 활성 유도효과

QR은 간세포에서 주로 생성하는 phase II enzyme의 한 종류로 quinone화합물을 환원시켜 세포의 독성을 제거한다. QR은 GST와 UDP-glucuronosyl transfer와 같이 phase II enzyme으로 외부의 독성이 있는 물질과 돌연변이물질, 발암물질로부터 세포를 보호한다. phase II enzyme생성 유도는 항암활성으로 사료된다(Wattenberg, 1985 ; Tallaly *et al.*, 1987). 합환근 메탄올 추출물과 각 분획물에 암 예방 효소 유도여부를 조사하기 위하여 Hepa 1c1c7 세포에서 발암물질의 해독에 관여하는 phase II계의 지표 효소인 QR을 활성화시키는 암 예방 성분의

Table III. Effects of solvent fractions from methanol extract of *Albizia* root on the induction of quinone reductase in Hepalcl7 cells

Treatment (10 µg/ml)	Specific QR activity	
	nmoles DCPIP reduced/ min/ mg protein	Increased rate (%)
Control	125.26 ± 2.02	
Methanol ext.	163.17 ± 7.28	130
Hexane fr.	154.42 ± 3.25	123
Chloroform fr.	159.27 ± 4.38	127
Ethylacetate fr.	158.10 ± 6.28	126
Butanol fr.	352.07 ± 4.25	281

The values are mean±S.D. (n=5).

Values followed by the same superscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

DCPIP: 2,6-dichlorophenolindophenol

존재 여부를 조사하기 위하여 QR 활성 유도여부를 측정하였다.

합환근 분획물인 각 시료를 생쥐의 간암세포 Hepalcl7에 처리한 결과 모두 1.2배 이상의 phase II enzyme인 QR의 생성을 유도하였으며 특히 부탄올 분획물은 대조군과 비교하여 약 2.8배의 QR 유도 활성효과를 보였다(Table III). 그러므로 합환근은 돌연변이원성, 발암물질의 대사과정 시 생성된 quinone에 의한 세포내 독성 및 세포내 DNA손상을 없애주며, 발암물질의 종양효과도 방어해 줄 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 합환근은 효과적으로 세포내의 phase II enzyme인 QR의 농도를 높여주고 GSH와 GST의 양을 증가시켜 외부 및 대사물질에 의해서 일어날 수 있는 돌연변이와 암 발생을 억제할 것으로 사료된다.

결 론

본 연구에서는 한약재로 널리 사용되고 있는 합환근을 분획별로 추출하여 HepG2 세포주에 대하여 성장저해 효과를 확인하고 이 추출물로 부터 암예방 효과를 살펴보기 위하여 GSH, GST 및 phase II enzyme인 QR생성 유도를 조사하였다. HepG2 세포주에 대한 성장 저해효과는 Butanol 추출물이 가장 높은 89%의 억제율을 보였다. 벤조피렌에서 glutathione(GSH)생성 및 glutathione-S-transferase(GST)의 활성은 합환근의 메탄올 추출액에 의한 GSH생성 및 GST활성은 증가하였다.

합환근에서 암 예방 효소계인 QR의 활성 유도율 hepalcl7 세포주를 사용하여 검토한 결과 합환근의 각 분획물이 QR 효소활성을 유의적으로 증가시켰으며 특히 부

탄올 분획물은 대조군에 비하여 약 2.8배의 QR 활성 유도 효과를 보였다.

이상의 결과에서 합환근의 각 분획별 추출물이 암세포 성장 저해 효과를 나타내었으며 B(a)P 투여로 GSH생성 및 GST활성이 감소된 생체내에서 합환근 추출물을 투여 함으로 증가 되었다. 또한 암예방의 지표효소로 알려져 있는 phase II enzyme인 quinone reductase의 활성유도가 높은 것으로 보아 암예방에 대한 효과가 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 동국대학교 논문게재연구비 지원비에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analyt. Biochem.*, 72, 248.
- Boylard, E. and Chasseud, C.F. (1979). The role of Glutathione and Glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis. *Adv. Cancer Res.*, 29, 175.
- Benson, A.M., Hunkeler, M.J. and Talalay, P. (1980). Increase of NAD(P)H: Quinone reductase by dietary antioxidants; Possible role in protection against carcinogenesis and toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77, 5216.
- Chang J.S., Kim H.J., Bae J.T., Park S.H., Lee, S.E., Kim O.M. and Lee K.R. (1998). Inhibition effects of *Auricularia auricula-judae* methanol extract on lipid peroxidation and liver damage in benzo(a)pyrene treated mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27(4), 712.
- Doll, R. (1992). The lessons of life. *Cancer Res.*, 52, 2024S-2029.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem Biophys.*, 82, 70.
- Green, L.M., Reade, J.L. and Ware, C.F. (1984). Rapid colometric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. *J. Immunological Methods*, 70, 257.
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid reaction. *Anal. Biochem.*, 249(22), 7130.
- Molders, P. and Jernestion, B. (1983). Interaction of glutathione with reactive intermediates. In Larson, A. Orrenius, S., Holgren, A and Mannervik, B. (eds.), Functions of glutathione: biochemical, physiological, toxicological, and clinical aspects. 99-108. Reven Press, New York, NY.
- Mitchell, J.R., Hinson, J.A. and Nelson, S.D. (1976). Glutathione and drug induced tissue lesions: metabolism and function. In Arias, I.M. and Jakoby, W.B. (eds), Glutathione, 357-367. Raven Press, New York, NY.
- Sharma, S., Stutzman, J.D., Kelloff, G.J. and Steele, V.E.

- (1994). Screening of potential chemopreventive agents using biochemical markers of carcinogenesis. *Cancer Res.*, 54, 5848.
- Sakamoto, Y. and Kino S. (1988). Glutathione의 生理活性. In "Glutathione". 3rd ed, 講談社, 東京, 5.
- Talalay, P., DeLong, M.J. and Prochaska, H.J. (1987). In cancer biology and therapeutics Cory. J.G., and Szentivani, A., eds, Plenum, New York, p. 197.
- Tanaka, T., T. Kojima, A. Hara, H. Sawada and H. Mori. (1993). Chemoprevention of oral carcinogenesis by D,L-difluoromethylornithine, an ornithine decarboxylase inhibitor: dose-dependent reduction in 4-nitroquinoline 1-oxide-induced tongue neoplasmas in rats. *Cancer Res.*, 53, 772-776.
- Wattenberg, L.W. (1985). Chemoprevention of cancer: *Cancer Res.*, 45, 1.
- Wattenberg, L.W. (1997). An overview of chemoprevention: current state and future projects. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 216, 133-141.
- 김명주(1991). 鹿角이 Benzo(a)pyrene에 의해 유도된 간장해에 미치는 영향, 영남대학교 석사학위논문.
- 최병돈, 염곤(2000). 국내 생약자원으로부터의 항종양효과의 검색. *생약학회지*, 31(1), 16-22.
- 吳普 述著(1994). 神農本草經, 醫聖堂, 서울, 권2, 26-27.
- 李時珍(1982). 本草綱目, 人民衛生出版社, 北京 2013-2014.
- 顏正華 主編(1991). 中藥學, 人民衛生出版社, 北京 669-670.
- 李京淳(1986). Albizzia julibrissin Durazz 엑기스의 抗真菌作用, 忠北大藥學論文集 1,17-22.
- 李盛雨(2000). 歡皮 抽出物이 마우스의 肝毒性 抑制效果 및 癌細胞 成長 阻害效果에 관한 研究, 東國大學校 大學院 韓醫學科.
- 土田成記, 佐藤清美(1988). Glutathione S-transferase isozyme, glutathione 研究のエポック. 蛋白質, 核酸, 酵素 臨時增刊, 33, 1370.
- 배송자, 김남홍, 고진복, 노승배, 정복미(1997). 고들빼기 식이가 간 독성을 유발한 흰쥐의 효소 활성화에 미치는 영향. *한국영양학회지*, 30, 19-24
- 김선여, 김홍표, 이미경, 변순정, 김승희, 문에리, 한형미, 허훈, 김영중(1993). 사염화탄소에 의하여 유발된 흰쥐의 간 독성에 미치는 비테인의 효과. *약학회지* 37(5), 538-543.