

산겨릅나무 추출물의 이화학적 특성과 암세포 성장 억제 효과

신인철¹ · 사재훈¹ · 심태흠¹ · 이진하^{2,*}

¹강원도보건환경연구원, ²강원대학교 바이오산업공학부

The Physical and Chemical Properties and Cytotoxic Effects of *Acer tegmentosum* Maxim. Extracts

In-Cheol Shin¹, Jae-Hoon Sa¹, Tae-Heum Shim¹ and Jinha-Lee^{2,*}

¹Gangwon Research Institute of Health and Environment, Chuncheon, Gangwon-do 200-822, Korea

²School of Biotechnology and Bioengineering Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon-do 200-701, Korea

Received August 17, 2006; Accepted December 1, 2006

Food constituents analysis of *Acer tegmentosum* Maxim. (Acer TM) stem was carried out according to AOAC method, and the antiradical activity on DPPH and cytotoxicity on human cell lines (AGS, HepG2, A549, MCF-7 and Chang) for the 80% ethylalcohol (EtOH) extracts of Acer TM stem were studied. The antiradical activity on DPPH radical of the ethylacetate (EtOAc) fraction of the bark showed a higher activity than that of α -tocopherol, ascorbic acid and BHT. The inhibition activity of the 80% EtOH extracts from Acer TM stem on human cancer cell lines by SRB assay indicated a dose-dependent growth inhibition on most human carcinoma cells. The growth inhibition rate of each human cancer cell line showed 91.3% to AGS, 75.0% to A549, 74.1% to HepG2, and 70.2% to MCF-7 cells, respectively, when the 80% EtOH extract (1 mg/ml) of Acer TM stem was added.

Key words: *Acer tegmentosum* Maxim, antiradical, DPPH, cytotoxicity, human cancer cell lines

서 론

식생활 및 생활환경의 변화와 복잡한 사회생활 중에서 신체의 각종 저항력의 문제와 노령인구의 급속한 증가로 질병 또한 증가하고 있으며, 그의 주된 요인 중 하나로 알려진 활성 산소종의 산화적 대사산물로서 체내에서의 지질과산화물의 축적은 생체기능의 감소와 신경퇴행의 발병과 밀접한 관련이 있다고 보고되고 있다.^{1,2} 따라서 노화의 억제 및 지연시키는 기능성 물질을 찾고자 많은 연구들이 발표되고 있으며, 식품성분이나 식물성분인 flavonoids, polyphenols 등의 생리활성 성분들이 암과 같은 질병의 예방 및 특정 질병의 진행을 억제하거나 지연시킨다는 연구 결과가 보고되고 있다.³ 국내산 식용 자원들의 폴리페놀계 화합물 및 추출물들의 생리활성에 대한 연구로는 감귤류의 hesperetin, hesperidin, naringenin, naringin 등의 지질 과산화 효과⁴, 고들빼기속의 플라보노이드의 연구⁵, 진달래 꽃의 항산화성 플라보노이드⁶, 산조인의 플라보노이드와 사포닌의 진정효과⁷, 천연 플라보노이드의 암세포 억제효과⁸, 음나무잎 및

수피의 진통소염효과 및 산화적 스트레스에 대한 효과⁹, 사자발쑥의 플라보노이드¹⁰, 만병초 추출물의 DNA에 대한 유전 독성과 암세포 등에 대한 세포독성¹¹, 뽕나무 잎과 줄기의 유전 독성 및 돌연변이원성¹² 등의 많은 연구 보고가 있다. 그러나 본 연구의 재료로 사용한 산겨릅나무의 성분이나 생리활성에 대한 연구는 홍 등의 catechin 분리 및 DPPH에 대한 항산화¹³, 허 등의 페놀계 배당체 분리¹⁴, 신 등의 암세포에 대한 작용¹⁵ 등이 있었다. 산겨릅나무(*Acer tegmentosum* Maxim.)는 중부 이북의 표고 500 m 이상의 심산계곡과 산기슭에 자생하는 단풍나무과의 낙엽활엽교목으로서 높이가 15 m에 달하고 수피는 녹색으로 백색 줄이 세로로 나있고 줄기는 곧게 올라가서 원형으로 퍼지는 나무로, 민간에서는 이 나무의 작은 줄기 및 수피를 외상 지혈 등의 치료로 사용하기도 하고 악성 질병 예방용으로 마시는 풍습도 있었다고 한다.^{16,17} 산겨릅 나무는 지역에 따라 청해적, 청해자, 색수피, 산지릅, 참겨릅나무, 산청목, 벌나무 등 다양한 이름으로 불리고 있다.

본 연구에서는 산겨릅나무에 대한 식품학적 성분 분석과 그 추출물의 생리활성을 탐색하여 효용가치를 높일 수 있는 기초 자료로 이용하고자, 항산화 활성 및 수종의 사람 암세포주 성장 억제효과 등을 조사하여 그 결과를 보고한다.

*Corresponding author

Phone: +82-33-250-6454; Fax: +82-33-241-0508

E-mail: jinhalee@kangwon.ac.kr

재료 및 방법

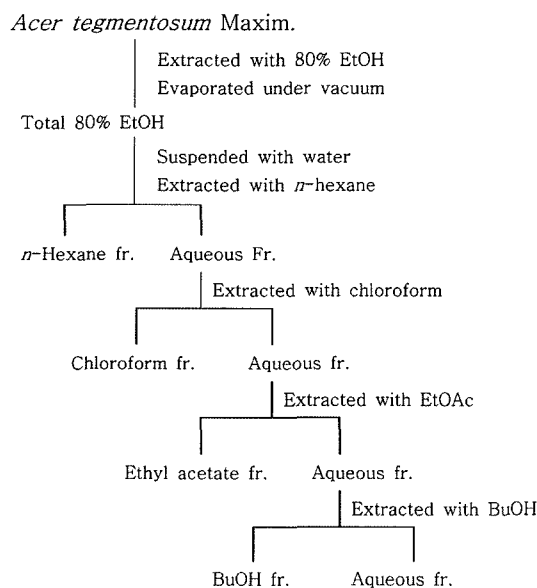
시료의 추출. 실험에 사용된 산겨릅나무는 홍천군 내면에서 채취해서 음건, 세절하였으며, 수피(가지에서 벗긴 껍질부분)와 줄기전체(어떤 처리도 하지 않은 자연 상태의 나무줄기 부분) 부가 로 나누어 사용하였다. 각 부위별 추출물 제조는 수직 환류 냉각기를 부착한 추출기를 이용하여 각각의 재료 중량 대비 약 20배의 80% EtOH 용액을 가하여 12시간씩 2회 반복 추출한 후 No. 2 filter paper(Adventec, Japan)로 여과하고 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하여 냉장 보관하며 시료로 사용하였다. 또 일부의 EtOH 추출물은 다시 EtOAc, *n*-butylalcol(BuOH), *n*-hexane, chloroform 등으로 분획물을 얻어 시료로 사용하였다.

시약 및 기구. Dimethylsulfoxide(DMSO), Gentamycin sulfate, Phosphate buffered saline(PBS), Sodium bicarbonate는 Sigma-Aldrich Co.(USA)에서, Trypsin-EDTA, Dulbeco's modified Eagle medium(DMEM), RPMI Medium 1640, Fetal bovine serum(FBS)는 Gibco Co.(USA) 제품을 사용하였고 그 외 시약 들은 시판 특급을 사용하였다. Inverted microscope은 독일 ZEISS사의 TEALAVAL3을 사용하였고 microplate reader는 Molecular Devices사(Sunnyvale, CA, USA)의 model VERSAmax 을 사용하였다.

일반성분분석. 산겨릅나무 줄기의 일반성분 분석은 AOAC법¹⁸⁾ 을 참조하여 실험하였으며 수분은 135°C 상압 건조법, 조회분은 590°C 직접 회화법, 조지방은 Soxhlet 추출법(SOXTHERM-SOX406, Gerhardt Co, Germany)을 이용하였고 조단백질은 단 백질 자동 분석 장치(2300 Kjeltac Analyzer Unit, Foss Tecator AB, Sweden)를 이용하여 질소계수 6.25를 곱하여 함량(%)로 나타내었고, 탄수화물은 100에서 수분, 조회분, 조지방, 조단백 질을 제외한 값으로 나타냈다.

무기질분석. 산겨릅나무 줄기 시료의 전처리 는 음건한후 건 식 회화법을 이용하였다. 즉, 590°C에서 재료를 회화한 후 6 M HCl 약 10 ml 가하여 수욕상에서 증발건조하고 3 M HCl 약 10 ml를 가하여 수분 간 가열 후 원소별 검출 한계 및 직선선 범위를 고려하며 적정 농도로 희석하여 atomic absorption spectrophotometer(Analytic Jena AG NovAA 330, Germany) 로 분석하였다. Calcium(Ca)은 간섭을 피하기 위하여 strontium chloride · 6H₂O(Aldrich)를 Sr로서 5000 ppm이 되도록 첨가한 1 M HCl용액에 희석하여 측정하였다. Phosphorus(P)은 AOAC 법을 참조하여 650 nm에서 UV/VIS spectrophotometer(DU-800, Beckman coulter Inc, USA)를 사용하여 몰리브덴 청 비색법으 로 분석하였다.

추출물의 분획. 산겨릅나무 수피 및 줄기부 각각 1 Kg을 시 료 중량 대비 약 20배 양의 80% ethyl alcohol(EtOH)에 넣고 가열하고 알콜을 증발시킨 후 얻어진 수피추출물(195.36 g)과 줄기추출물(75.00 g)을 얻었다. 이 농축물들을 각각 *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate(EtOAc), *n*-butanol(BuOH) 등으로 순 차적으로 분획하였으며 각각의 분획 용매를 감압 농축하여 수 피에서 *n*-hexane 분획물(6.60 g), chloroform 분획물(12.58 g), EtOAc 분획물(7.98 g), *n*-BuOH 분획물(42.80 g), aqueous 분획



Scheme 1. Process of extraction and fractionation of *Acer tegmentosum* Maxim. stem.

물(125.40 g)을, 줄기에서는 *n*-hexane 분획물(3.97 g), chloroform 분획물(6.20 g), EtOAc 분획물(4.43 g), *n*-BuOH 분획물(7.00 g), aqueous 분획물(53.40)을 얻은 후 각 분획물들을 항산화 효과 및 암세포 생육 억제효과 등의 생리활성 탐색에 사용 하였다.

DPPH 라디칼 소거 활성. 생체대사과정이나 스트레스, 염증 등의 원인이 되는 유해성 유리기의 일반적인 조사법으로 사용 되는 라디칼 소거능을 측정하기 위하여 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH, Wako Co. 일본)에 대한 각 분획물들의 소거활 성을 Brand-Williams, W. 등의 방법을 응용하여 측정하였다^{19,20)}. 즉, 각각의 분획물들을 여러 가지의 농도로 4 ml의 methanol에 녹이고 0.2 mM DPPH 1 ml를 첨가한 다음 실온에서 30분간 방치 후 515 nm에서의 흡광도를 UV/VIS spectrophotometer (DU-800, Beckman Coulter INC, USA)를 사용하여 측정하였 다. 시료를 첨가하지 않은 methanol을 대조군으로 하고 흡광도 를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도를 50% scavenging coefficient(SC₅₀)로 나타내었다.

분획물에 대한 흡광도 측정. 산겨릅나무의 수피 및 줄기를 항 산화성물질로 알려진 화합물들(protein, aromatic amine, phenol etc.)의 용출정도를 285 nm에서 흡광도를 측정하였고, 카로티노 이드 함량은 450 nm에서 측정하였으며 갈색화 반응 생성물질 의 농도를 나타내는 갈색도는 490 nm에서 측정하였다. 시료는 모두 농도가 0.1 mg/ml가 되게 methanol에 용해시켜 측정하였 다²¹⁾.

세포주 및 세포배양. 실험에 사용한 세포는 모두 인체기원 세 포주로서 간암세포(HepG2, hepatocellular carcinoma; HB-8064, ATCC), 위암세포(AGS, stomach adenocarcinoma; CRL-1739, ATCC), 폐암세포(A549, lung carcinoma; CCL-185, ATCC), 유방암세포(MCF-7, mammary gland, epithelial, breast adeno- carcinoma; HTB-22, ATCC)와 정상 간세포(Chang, normal liver cell; CCL-13, ATCC)을 대상으로 하였다. 배양액의 제조 는 간암세포, 유방암세포 및 정상 간세포는 NaHCO₃ 3.7 mg/ml

Table 1. Food and mineral compositions of *Acer tegmentosum* Maxim. stem

Contents	Main Ingredients (%)						Minerals (mg%)								
	Moisture	Ash	Crude Protein	Crude Fat	Carbohydrate	Total	K	Na	Ca	Mg	Mn	Fe	Zn	Cu	P
	27.5	1.6	8.7	3.8	58.4	100	302.4	24.8	116.6	57.8	9.5	4.4	1.6	0.2	0.8

및 gentamycin sulfate 50 µg/ml을 첨가한 후 1 M HCl로 pH를 7.4로 조절된 DMEM 배지를 사용하였고 폐암세포와 위암 세포는 NaHCO₃ 2.0 mg/ml 및 gentamycin sulfate 50 µg/ml을 첨가한 후 1 N HCl로 pH를 7.4로 조절된 RPMI 1640 배지를 사용하였다. 모든 세포주는 각각의 배지에 10% FBS를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator 조건 하에서 배양하였다. 각 세포는 성장 속도에 따라 1주에 2-3회씩 계대 배양하며 사용하였다.

암세포주들의 성장 억제 효과. 세포배양 및 세포독성과 암세포 생육억제 효과는 변¹¹⁾ 등의 방법에 따라 수행 하였다^{11,18)}. 산겨릅나무 줄기 추출물은 일정량을 해당 배지에 녹이고 멸균된 Millipore filter disc 0.45 µm로 여과하여 대조군에 대하여 0.125, 0.25, 0.5, 1 mg/ml가 되도록 배지로 희석하여 사용하였다. 75-cm² cell culture flask에 세포가 80% 정도 되었을 때 PBS로 세척한 다음 0.25% trypsin-EDTA로 부착 세포들을 처리하고 해당 배지 20 ml를 넣어 1,000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 원심분리한 세포들을 모은 후 haemocytometer를 이용하여 각각의 세포들을 해당 배지로 희석하여 96 well microplate에 4 × 10⁴ cells/ml의 농도로 100 µl씩 분주하였고 24 시간 동안 배양한 후 추출물들을 농도별로 100 µl씩 각각의 세포들에게 투여하고 48시간 동안 배양하였다. 세포 독성에 대한 측정은 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 생육 정도를 측정하는 Sulforhodamine B(SRB) assay로 실험하였다. 즉, 각각의 세포를 48시간 배양한 후 배양액을 제거하고 4°C의 10% TCA 100 µl를 투여하여 1시간 동안 냉장고에서 세포를 고정시켰다. 증류수로 5회 반복 세척한 다음 0.4% SRB(w/v, 1% acetic acid 용액중에 용해) 100 ml로 세포들을 30분간 상온에서 염색 하였다. 1% acetic acid로 5회 반복 세척한 후 37°C에서 건조시킨 뒤 10 mM Tris 용액 150 ml를 넣어 용해시킨 다음 흡광도 490 nm에서 측정하였다.

Table 2. Radical scavenging activity of fractions obtained from *Acer tegmentosum* Maxim. stem extracts on DPPH radicals

Solvent fractions	Scavenging activity (SC ₅₀ ¹⁾ : µg/ml	
	Bark	stem
Hexane	> 120.0	> 120.0
Chloroform	58.6	30.1
Ethyl acetate	2.8	70.0
n-Butanol	3.2	33.8
Aqueous	25.5	78.0
Ascorbic acid*	4.5	
α-Tocopherol*	4.0	
BHT*	6.5	

¹⁾Amount required for 50% reduction of DPPH (0.04 mM) after 30 min.

*Reference compound.

결과 및 고찰

일반성분 함량. 산겨릅나무 줄기의 식품성분 함량은 Table 1과 같이 탄수화물이 58.4%, 수분 27.5%, 조단백질 8.7%, 조지방 3.8%, 조회분 1.6%의 순으로 나타났다.

무기질 함량. 산겨릅나무 줄기 시료의 전처리된 음건하여 건식 회화법으로 분해한 후 일정농도로 희석하여 분석한 무기질 함량을 Table 1에 나타내었다. 주요 무기성분은 K과 Ca이 302.4 mg%와 116.6 mg%로 가장 많이 함유되어 있고 Mg, Na, Mn, Fe, Zn, P, Cu의 함량이 각각 57.8, 24.8, 9.5, 4.4, 1.6, 0.8, 0.2 mg% 순으로 나타났다.

DPPH 유리기 소거법에 의한 항산화 효과. 산겨릅나무 줄기 시료 추출물의 분획물들에 대한 DPPH법에 의한 라디칼 소거 효능을 Table 2에 나타내었다. 실험 결과 전반적으로 줄기 보다는 수피부에서 높은 소거 효과를 나타냈으며, 분획물 별로는 EtOAc > n-BuOH > aqueous > chloroform > n-hexane 순으로 활성을 보였다. 특히, 수피부의 EtOAc fr.(SC₅₀: 2.8 µg/ml)과 수피부의 n-BuOH fr.(SC₅₀: 3.2 µg/ml)은 천연항산화제로 쓰이는 ascorbic acid와(SC₅₀: 4.5 µg/ml), α-tocopherol(SC₅₀: 4.0 µg/ml) 및 합성 항산화제인 BHT(SC₅₀: 6.5 µg/ml) 보다도 높은 소거능을 보였다.

추출물의 분획물에 대한 흡광도 측정. 산겨릅나무 줄기의 수피부와 줄기 추출물들의 용매별 분획물들을 285, 450, 490 nm에서 흡광도를 측정된 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 대부분의

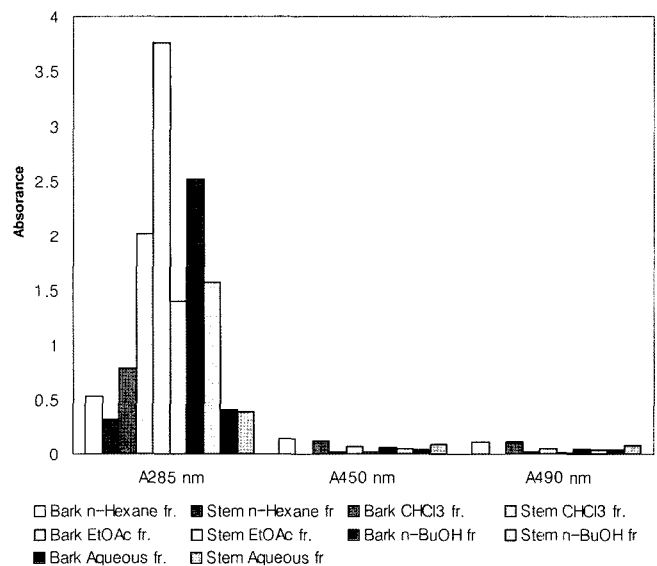


Fig. 1. Absorbance of fractions obtained from *Acer tegmentosum* Maxim. stem extracts (0.01% methanol solution) at 285 nm, 450 nm, and 490 nm, respectively.

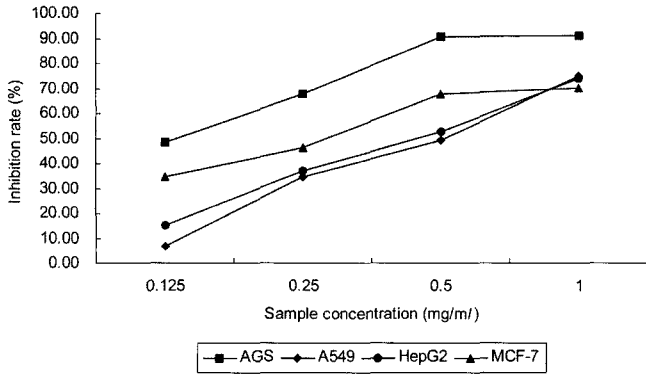


Fig. 2. Inhibitory effect of 80% ethanol extract for human cancer cell lines (HepG2, AGS, A549, and MCF-7).

시료 분획물들은 페놀성계 화합물로 추정할 수 있는 285 nm에서 높은 흡광도를 보였다. 흡광도의 세기는 수피의 EtOAc fr. (3.7578) > 수피의 *n*-BuOH fr. (2.5167) > 줄기의 chloroform fr. (2.0247) > 줄기의 *n*-BuOH fr. (1.5744) > 줄기의 EtOAc fr. (1.4060) 순으로 높게 나타났다. 이러한 페놀계 화합물의 흡광도의 결과와 DPPH 유효성에 대한 항산화 활성이 수피부의 EtOAc fr. (SC₅₀: 2.8 µg/ml) 및 수피부의 *n*-BuOH fr. (SC₅₀: 3.2 µg/ml)에서 높은 값은 페놀성계 화합물과 깊은 관계가 있을 것으로 사료된다. 카로티노이드계 화합물이 용출되는 450 nm와 갈변물질이 주로 용출되는 490 nm에서의 낮은 흡광도는 유효성에 대한 강한 억제 효과에 큰 영향을 미치지 못하였을 것으로 생각된다.

페놀계 화합물과 항산화 효과와의 관계는 많은 연구보고가 있다. Yokozawa²²⁾는 탄닌계 화합물과 flavonoid류가 DPPH 유효성의 소거 효과에 관여하는 것을 증명하였고, Okawa 등²³⁾도 동양 전통의학 자원 식물들의 추출물 중의 flavonoid류가 DPPH 라디칼의 소거 활성에 기여하는 것을 확인 하였다.

Bandoniene²⁴⁾ 및 Peschel 등²⁵⁾은 사과 등의 과일류와 야채 폐기물로 부터 항산화성 물질도 페놀류와 관련성이 있고, Katalinic 등²⁶⁾은 70여종의 전통 동양 의학 식물 재료의 추출물의 항산화 효과도 페놀성 화합물이 관련이 있음을 강조하였다.

암세포주들에 대한 성장 저해와 정상세포에 대한 세포 독성. 산겨릅나무 줄기의 80% 에탄올 추출물을 이용하여 인체기원 세포주인 간암세포(HepG2), 위암세포(AGS), 폐암세포(A549), 유방암세포(MCF-7)를 대상으로 한 암세포 성장 억제 효과를 Fig. 2에 나타내었다. 실험 결과 암세포주들 모두 농도 의존적으로 성장 억제 효과를 보여주었다. 0.5 mg/ml 의 농도에서 모든 암세포주들이 50% 이상의 억제를 나타내었고 특히 AGS에서는 0.125 mg/ml의 저농도에서 억제효과가 50%에 가까웠으며 0.5 mg/ml에서는 90% 이상의 억제효과가 나타나 실험에 사용된 세포주들 중에서 가장 높은 억제효과를 보여주었다. 다음으로 MCF-7 > HepG2 > A549 순으로 나타났다. 한편, 정상세포 (Chang, normal liver cell)을 대상으로 한 세포 독성을 알아본 결과 0.5 mg/ml에서 28%의 세포 독성을 일으켜 어느 정도의 독성이 관찰되었다(data not shown). 천연 식물자원의 항산화와 항암 효과와의 연구는 오래 전부터 많은 과학자들에 의하여 수행되어 왔다²⁷⁻⁵¹⁾. 식물 추출물의 사람 및 동물의 종양과 악성

세포주 들에 대한 항암효과는 인삼 등의 추출물³²⁻³⁵⁾, 주목의 taxol³⁶⁻³⁸⁾, 겨우살이³⁹⁻⁴³⁾, 포도의 resveratrol⁴⁷⁻⁴⁸⁾, 올리브오일의 페놀계 화합물⁴⁹⁾, 만병초¹¹⁾, 마가목⁵⁰⁾으로부터 연구되었고, 이들 식물 유래의 항암 효과는 항산화 효과와 관련이 있고 이 항산화 효과의 대부분이 플라보노이드류, 탄닌류 등을 포함한 식물유래의 페놀계 화합물에 의하여 이루어지고 있어서 식물로부터 유용한 약품을 개발⁵¹⁻⁵⁵⁾하려는 노력이 계속 되고 있다.

이와같이 식물 자원의 암세포 생육 억제 효과는 대체로 식물의 페놀성 성분들이 관여하며 이들 성분은 유효성의 활성을 억제하는 소거 효과도 가지고 있어서, 본 연구에서도 항암효과와 DPPH 에 대한 항산화 효과의 상관관계가 밀접한 것으로 사료된다.

초 록

우리나라 중부 이북 해발 500 m 이상의 고산지대에서 주로 자생하는 산겨릅나무(*Acer tegmentosum* Maxim.)를 대상으로 식품화학적 성분 분석과 산겨릅나무 줄기의 EtOH 추출물의 분획물을 제조하여 DPPH 유효성 시험, 그리고 사람 유래의 암세포들(위암세포(AGS), 간암세포(HepG2), 폐암세포(A549)와 유방암세포(MCF-7)에 대한 항암 효과를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 산겨릅나무 줄기 의 식품성분 함량은 탄수화물이 58.4%, 수분 27.5%, 조단백질 8.7%, 조지방 3.8%, 조회분 1.6%의 순으로 나타났고 무기질의 주요 무기성분은 K과 Ca이 302.4 mg%와 116.0 mg%로 가장 많이 함유되어 있고 Mg, Na, Mn, Fe, Zn, P, Cu의 함량이 각각 57.8, 24.8, 9.5, 4.4, 1.6, 0.8, 0.2 mg% 순으로 나타났다.

2) DPPH를 이용한 항산화 효능을 보기위하여 산겨릅나무 줄기의 수피부 및 줄기를 80% EtOH로 추출하고, 그 추출물들을 다시 *n*-hexane, chloroform, EtOAc, *n*-BuOH 및 aqueous층으로 분리하였다. 분획물들을 대상으로 DPPH 유효성의 소거능을 검증한 결과 전반적으로 줄기 보다는 수피부에서 높은 소거 효과를 나타냈으며 용매별로는 EtOAc > *n*-BuOH > aqueous > chloroform > *n*-hexane 순으로 활성을 보였다. 특히, EtOAc fr. (SC₅₀: 2.8 µg/ml)과 *n*-BuOH fr. (SC₅₀: 3.2 µg/ml)은 천연항산화제로 쓰이는 ascorbic acid(SC₅₀: 4.5 µg/ml)와 α-tocopherol (SC₅₀: 4.0 µg/ml) 및 합성 항산화제인 BHT(SC₅₀: 6.5 µg/ml)보다도 높은 소거능을 보였다.

3) 유효성의 소거 기능과 분획물들의 성분과의 상호 관계를 조사하기 위하여 각 분획물들의 흡광도를 조사한 결과, 페놀성계 화합물계의 특성을 보이는 280 nm 부근에서 강한 흡광도를 나타내어 DPPH에 의한 높은 항산화 효능이 페놀성계 성분과 관계가 깊은 것으로 사료되었다.

4) 산겨릅나무 줄기의 80% EtOH 추출물의 암 세포주들에 대한 성장 저해와 정상세포에 대한 세포 독성을 알아보기 위하여 인체기원 세포주인 간암세포(HepG2), 위암세포(AGS), 폐암세포(A549), 유방암세포(MCF-7)와 정상 간세포(Chang)를 대상으로 추출농도 0.125, 0.25, 0.5, 1(mg/ml) 등 4단계로 나누어 실험하였으며 다음과 같은 결론을 얻었다.

위암세포의 경우 0.125 mg/ml 의 저농도에서 50% 이상, 0.5 mg/ml에서는 90% 이상의 암세포 생육 억제효과를 보여주었다. 간암세포를 포함한 나머지 폐암세포와 유방암세포의 경우 모두 0.5 mg/ml에서 50% 이상의 세포 성장 억제 효과를 나타내었다.

감사의글

이 연구는 2005년도 산업기술자원부 지역협력사업(한림대 식의약품 전입상 지역기술 혁신 센터: RIC)의 연구비와 2005년도 강원지역 바이오산업 인력양성사업단 학술연구조성비의 지원으로 수행한 결과로 감사를 드린다.

참고문헌

- Harman D. (1998) Free radical theory of ageing. *Asia Pacific Heart J.* **7**, 169-177.
- King, A. and Young, G. (1999) Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. Am. Diet. Assoc.* **99**, 213-218.
- Barja, G. (2005) Free radicals and aging. *Trends Neurosciences.* **27**, 595-600.
- Cha, J. Y., Kim, H. J., Kim, S. K., Lee, Y. J. and Cho, Y. S. (2000) Effects of Citrus Flavonoids on the Lipid Peroxidation Contents. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* **7**, 211-217.
- Yang, H. S., Im, K. S. and Choi, J. S. (1992) The Pharmacological study on the plant of *Ixeris* spp. 2. Flavonoids and free amino acid composition of *Ixeris sonchifolia*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**, 296-301
- Chung, T. Y., Kim, M. A. and Daniel, J. (1996) Antioxidative Activity of Flavonoids Isolated from Jindalrae Flowers (*Rhododendron mucronulatum Turcz.*). *Agric. Chem. Biotechnol.* **39**, 320-326
- Shin, K. H., Woo, W. S. and Lee, C. K. (1981) Sedative Action of Flavonoids and Saponin from the Seeds of *Zizyphus vulgaris* Var. *spinosa* Bunge. *Kor. J. Pharmacogn.* **12**, 203-207.
- Kim, J. S., Choi, Y. H., Seo, J. H., Lee, J. W., Kim, S. K., Choi, S. U., Kang, J. S., Kim, Y. K., Kim, S. H., Kim, Y. S., and Ryu, S. Y. (2004) Anti-proliferative activity of Naturally Occurring flavonoids on cultured human tumor cell lines. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 164-170.
- Park H. J., Nam, J. H., Jung, H. J., Kim, W. B., Park, K. K., Chung, W. Y. and Choi, J. W. (2005) *In vivo* antinociceptive antiinflammatory and antioxidative effects of the leaf and stem bark of *Kalopanax pictum* in rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **36**, 318-323.
- Bang, M. H., Kim, D. H., Too, J. S., Lee, D. Y., Song, M. C., Yang, H. J., Jeong, T. S., Lee, K. T., Choi, M. S., Chung, H. G. and Baek, N. I. (2005), Development of biologically active compounds from edible plant sources XIV. Isolation and identification of flavonoids from the Aerial Parts of *Sajabalssuk* (*Artemisia herba*). *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **48**, 418-420.
- Byun, K. S., Lee, Y. W., Jin, J., Lee, M. K., Lee, H. Y., Yu, C. Y. and Lee, J. H. (2005) Genotoxicity and cytotoxicity in human cancer and normal cell lines of the extracts of *Rhododendron brachycarpum* D. Don leaves. *Korean J. Medicinal Corp Sci.* **13**, 199-205
- Jin, H. J., Lee, H. Y., Kim, J. D., Heo, M. Y. and Lee, J. H. (2005) Genotoxicity and mutagenicity of the extracts of *Morus alba* L. leaves and stem. *in vitro* assay. *Korean J. Medicinal Corp Sci.* **13**, 217-225.
- Hong, B. K., Kim, J. K., Kim, H., Lee, J. W., Yu, C. H. and Kim, M. J. (2006) Biological activity and bioactive composition of extracts from *Acer tegmentosum*. *Proc. of Soc. Korean Med. Crop. Sci* (Abstracts) **14**, 632-633.
- Hur, J. M., Yang, E. J., Choi, S. H. and Song, K. S. (2006) Isolation of Phenolic Glycosides from the stems of *Acer tegmentosum* Max. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **49**, 149-152.
- Shin, I. C., Sa, J. H., Kim, T. W., Park, K. Y., Jeong, K. J., Lee, T. W., Han, K. S., m Shim, T. H. and Oh, H. S. (2005) The influenceable of plant extracts of inside Gangwon-do on AGS cell and Hep3B cell growth control. *Rep. Inst. Health & Environ.* **16**, 39-45.
- Kim I. H. (1986) *Shinyak*, Insanga, Seoul, pp. 78-79.
- Kim I. H. (1998) *Shinyakchobon* (Vol. 2), Insanga, Seoul, pp. 413.
- Cuniff P. (ed) (1995) *Official Methods of Analysis of AOAC International* (16th ed). (Virginia, USA).
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* **28**, 25-30.
- Nikolai E. Polyakov, Tatyana V. Leshina, Tatyana A. Konovalova and Lowell D. Kispert (2001) Carotenoids as scavengers of free radicals in a fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants? *Free Radical Biology and Medicine* **31**, 398-404.
- Papazisis, K. T., Geromichalos, G. D., Dimitriadis, K. A. and Kortsaris, A. H. (1997) Optimization of the sulforhidamine B colorimetric assay. *J. Immunol. Methods* **208**, 151-158.
- Yokozawa, T., Chen, C. P., Dong, E., Tanaka, T., Nonaka, G. I., and Nishioka, I. (1998) Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochem. Pharmacol.* **56**, 213-222.
- Okawa, M., Kinjo, J., Nohara, T. and Ono, M. (2001) DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol. Pharm. Bull.* **24**, 1202-1205.
- Bandoniene, D. and Murkovic, M. (2002) On-line HPLC-DPPH screening method for evaluation of radical scavenging phenols extracted from apples. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 2482-2487
- Peschel W., Sánchez-Rabanaleda F., Diekmann W., Plescher A., Irene Gartzia, I., Diego Jiménez, D., Lamuela-Raventos, R., Buxaderas, S. and Codina, C. (2006) An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry* **97**, 137-150.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T. and Jukic, M. (2006) Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry* **94**, 550-557
- Suffness M. and Douros, J. D. (1981) Discovery of antitumor agents from natural sources. *Trends in Pharmacol Sci.* **2**, 307-310.
- Bieber, L. W., Filho, A. A. Da S., Lima, R. M. O. C., Chiappeta, A. D. A., Nascimento, S. C. D. Ivone A. Mélo, D.

- S. J. F. D. and Veith, H. J. (1986), Anticancer and antimicrobial glycosides from ipomoea bahiensis, *Phytochemistry* **25**, 1077-1081.
29. Powis, G. (1987) Metabolism and reactions of quinoid anticancer agents. *Pharmacol & Therapeutics* **35**, 57-162.
30. Lee, H. and Lin, J.-Y. (1988) Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine. *Mutation Res.* **204**, 229-234.
31. O'Brien, P. J. (1991) Molecular mechanisms of quinone cytotoxicity. *Chemico-Biological Interactions* **80**, 1-41.
32. Lee, Y. J., Jin, Y. R., Lim, W. C., Ji, S. M., Choi, S. H., Jang, S. Y. and Lee, S. K. (2003) A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. *J. Steroid Biochem. & Mol. Biol.* **84**, 463-468.
33. Yun, T. K. (2003) Experimental and epidemiological evidence on non-organ specific cancer preventive effect of Korean ginseng and identification of active compounds. *Mutation Res.* **523-524**, 63-74.
34. Yun, T. K. (2001) *Panax ginseng* - a non-organ - specific cancer preventive? *Lancet Oncol.* **2**, 49-55.
35. T. Kakizoe, T. (2000) Asian studies of cancer chemoprevention: latest clinical results. *Eur. J. Cancer* **36**, 1303-1309.
36. Han, K. H., Fleming, P., Walker, K., Loper, M., Chilton, W. S., Mocek, U., Gordon, M. P. and Floss, H. G. (1994) Genetic transformation of mature *Taxus*: an approach to genetically control the *in vitro* production of the anticancer drug, taxol. *Plant Sci.* **95**, 187-196.
37. Wall, M. E. and Wani, M. C. (1996) Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. *J. Ethnopharmacol.* **51**, 239-254.
38. John M. Pezzuto (1997) Plant-derived anticancer agents, *Biochem. Pharmacol.* **53**, 121-133.
39. Park, J. H., Hyun, C. K. and Shin, H. K. (1998) Cytotoxicity of heat-treated Korean mistletoe. *Cancer Lett.* **126**, 43-48.
40. Lee, S. J., Lee, M. K., Choi G. P., Yu C. Y., Roh S. K., Kim, J. D., Lee H. Y. and Lee, J. H. (2003) Growth enhancement and cytotoxicity of Korean mistletoe fractions on human cell lines. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **11**, 62-70
41. Lee, S. J., Lee, M. K., Choi G. P. P., Kim, N. Y., Roh S. K., Heo, M. Y., Kim, J. D., Lee H. Y. and Lee, J. H. (2003) Inhibitory effect of Korean mistletoe on the oxidative DNA damage. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **11**, 89-96.
42. Seo, J. H., Choi, Y. H., Kim, J. S., Kim, S. K., Choi, S. U., Kim, Y. S., Kim, Y. K., Kim, S. H. and Ryu, S. Y. (2004) Active principles of the Methanol Extracts of Korean Mistletoe responsible for the inhibitory effect on the proliferation of human tumor cell lines. *Korean J. Pharmacogn.* **35**, 134-138.
43. Choi, S. Y., Chung S. K., Kim, S. K., Yoo, Y. C., Lee, K. B., Kim, J. B., Kim, J. Y. and Song, K. S. (2004) An Antioxidant homo-flavoyadorinin-B-from Korean mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*). *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **47**, 279-282.
44. Frémont, L. (2000) Biological effects of resveratrol. *Life Sciences* **66**, 663-673.
45. Signorelli, P. and Ghidoni, R. (2005) Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *J. Nutr. Biochem.* **16**, 449-466.
46. Zunino, S. J. and Storms, D. H. (2006) Resveratrol-induced apoptosis is enhanced in acute lymphoblastic leukemia cells by modulation of the mitochondrial permeability transition pore. *Cancer Lett.* **240**, 123-134.
47. Eybl, V., Kotyzova, D. and Koutensky, J. (2006) Comparative study of natural antioxidants - curcumin, resveratrol and melatonin - in cadmium-induced oxidative damage in mice. *Toxicology* **225**, 150-156.
48. Ghosh, P., Besra, S. E., Tripathi, G., Mitra, S. and Vedasiromoni, J. R. (2006) Cytotoxic and apoptogenic effect of tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) root extract (TRE) and two of its steroidal saponins TS1 and TS2 on human leukemic cell lines K562 and U937 and on cells of CML and ALL patients. *Leukemia Research* **30**, 459-468.
49. Owen, R. W., Giacosa, A., Hull, W. E., Haubner, R., Spiegelhalder, B. and Bartsch, H. (2000) The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *Eur. J. Cancer* **36**, 1235-1247.
50. Lee, M. K., Lee, H. Y., Lee, J. H., Oh, J. S., Choi G. P., Kim, J. H. and Kim, J. D. (2002) Anticancer effect of *Sorbus commixta* Hedl Extracts. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **10**, 403-408.
51. Cai, Y.-Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q. and Corke, H. (2006) Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences* **78**, 2872-2888.
52. Morré, D. M. and Morré, D. J. (2006) Anticancer activity of grape and grape skin extracts alone and combined with green tea infusions, *Cancer Lett.* **238**, 202-209.
53. Wu, L.-C., Hsu, H.-W., Chen, Y.-C., Chiu, C.-C., Lin, Y.-I. and Ho, J.-A. A. (2006) Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry* **95**, 319-327.
54. Azmi, A. S., Bhat, S. H., Hanif, S. and Hadi, S. M. (2006) Plant polyphenols mobilize endogenous copper in human peripheral lymphocytes leading to oxidative DNA breakage: A putative mechanism for anticancer properties. *FEBS Letters* **580**, 533-538.
55. Sean D. Cox, K. Chamila Jayasinghe and Julie L. Markham (2005) Antioxidant activity in Australian native sarsaparilla (*Smilax glycyphylla*), *J. Ethnopharmacol.* **101**, 162-168.