

자두(후무사, 대석, 피자두) 추출물이 LPS로 염증을 유발한 Raw 264.7 세포와 암 세포에 미치는 영향

김세나 · 김소영 · 김정봉 · 박홍주 · 조영숙[†]

농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과

Effect of Extracts from Oriental Plum (Formosa, Oishiwase, Soldam) on LPS-stimulated Raw 264.7 Cells

Se-Na Kim, So-Young Kim, Jung-Bong Kim, Hong-Ju Park and Young-Sook Cho[†]

Department of Agrofood Resources, NAAS, RDA, Suwon 441-853, Korea

Abstract

The objective of this study is to evaluate the anti-cancer and anti-inflammatory activities of plum (Formosa, Oishiwase, Soldam) for the future development of functional food products. To determine the anti-inflammatory effect of different types of plums, the inhibitory effect of plum extracts on nitric oxide (NO) production were measured in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated Raw 264.7 mouse macrophage cells and human cancer cell lines (A549, Ags, HeLa, Hep3B). Among the three different plum cultivars, Oishiwase at a concentration of 1 mg/mL showed the highest inhibitory effects on NO production (%) in Raw 264.7 macrophage cells. Moreover, Oishiwase exhibited a higher anti-cancer activity against A549 (renal carcinoma, 50%), Ags (gastric carcinoma, 35%), HeLa (cervical carcinoma, 50%), and Hep3B (hepatocellular carcinoma, 31%) at a concentration on 1 mg/mL, respectively, compared to Formosa and Soldam. Our findings suggest Oishiwase plum extracts may serve as potential dietary sources of natural health promoting substances.

Key words : Anticancer activities, anti-inflammatory activities, plum.

서 론

현대인의 질병은 물질적 풍요와 함께 급성 질환에서 만성적으로 진행되는 퇴행성 및 대사성 질환들이 대부분이다. 퇴행성 및 대사성 질병에는 암, 고혈압, 당뇨병, 골다공증, 갱년기 질환, 심혈관 질환, 뇌혈관 질환, 피부병, 동맥경화, 신장병, 간경화, 변비 비만 등으로 현대인의 질환 대부분이 여기에 속한다고 할 수 있다(Kim *et al* 2012). 만성 질환은 발생 후 의학적 치료도 중요하지만 평소 식습관을 올바르게 영위함으로써 발생을 줄일 수도 있고 치료에 효과를 더할 수 있어, 사람들은 의약이 아닌 먹을거리로부터 이들 질병들을 극복하기 위한 해결책을 찾으려 노력하고 있고, 최근 식물소재 phytochemicals에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 것도 이러한 흐름의 하나라 볼 수 있다.

우리나라에서 주로 재배되고 있는 자두는 동양계 자두 중 Soldam(피자두), Formosa(후무사), Oishiwase(대석)이다. 자두

의 식품학적 연구보고에 의하면 건조 자두와 생자두에는 폴리페놀류와 식이섬유가 많이 함유되어 있으며(Judith *et al* 1994), 주요 폴리페놀류는 neochlorogenic acid와 chlorogenic acid 같은 페놀릭산과 myricetin, quercetin 같은 플라보노이드가 함유되어 있고(Peng *et al* 2003), 특히 myricetin은 Soldam과 Formosa에 각각 3.23 mg/100 g, 2.1 mg/100 g이 함유되어 있다(Kim *et al* 2012). 또한 안토시아닌(Tomas-Barberan *et al* 2001)과 질산염 및 아질산염(Shin *et al* 2002) 등이 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다. 이외에 자두가 갖는 생리활성 보고에는 재래종 적자두의 효소 갈변 반응 생성물의 돌연변이 억제 작용(Ham *et al* 1987a, Ham *et al* 1987b), 아질산염 소거에 미치는 영향(Lee *et al* 2000), 아시아 자두 농축액의 안지오텐신에 의한 혈관 평활근 성장 신호 억제에 미치는 영향(Utsunomiya *et al* 2002), 폴리페놀의 항암작용(Kim *et al* 2004), 생육시기별 후무사의 식중독균 저해 효과(Lee *et al* 2003), 생육시기에 따른 피자두의 항산화 효과(Yu *et al* 2004), 건조자두의 골다공증 유발 마우스에서의 골 손실 억제 효과(Franklin *et al* 2006), 위장관 성인의 미약한 설사 유발 작용

[†] Corresponding author : Young-Sook Cho, Tel : +82-31-299-0512, Fax : +82-31-299-0504, E-mail : gasinali@Korea.kr

(Laura et al 2007), 자두가 면역 증강에 미치는 영향(Lee et al 2009) 등이 있다. 이는 일부 품종에 국한된 연구 결과로 우리나라 주요 자두 품종인 후무사, 대석조생 특히 피자두에 대한 총체적인 연구는 부족한 실정이며, 최근 서양에서 변비를 치료하기 위해 애용하는 건조자두나 자두주스의 수입이 늘고 있어, 국내 자두 소비량이 위축이 우려되고 있다. 더욱이 우리나라에서는 자두를 주로 생물로만 이용하고 있어 계절적인 제약이 크기 때문에 자두 가공품 개발이나 자두의 부가가치 향상을 위한 건강기능성 효과 구명에 대한 연구가 더욱 시급히 요구되고 있다. 이에 본 연구에서는 자두의 항염 활성 및 암세포에 미치는 영향을 통하여 식품으로서의 자두의 가치를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 추출 방법

본 실험에 사용된 자두 후무사(Formosa), 대석(Oishiwase) 및 피자두(Soldam) 3종은 경북 김천에서 구매하였으며, 수확 시기는 각각 7월 중순, 7월 하순, 8월 초순이었다. 실험에 사용된 세 품종의 자두는 푸르스름한 빛이 돌고, 단단한 질감의 형태로 섭취하기에 적당한 적숙기의 자두로 판단되었다. 자두는 동결건조하여 각 5 g씩 정량하고, 시료 중량의 10배의 80% 에탄올을 첨가하여 실험적 조건에서 추출의 수율을 높여줄 수 있다고 알려져 있는 초음파 병행 추출 혹은 교반 추출로 1시간 추출 후, 60°C 환류 추출기에서 12시간씩 2회 반복 추출하였다. 추출물은 40°C 감압농축기(rotary vacuum evaporator)를 이용하여 농축하여 동결건조하여 -78°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 세포 독성 측정

세포 독성 측정에 사용한 세포주는 Raw 264.7(KCLB40071)로 한국세포주은행(KCLB)으로부터 분양받아 사용하였다. 세포의 농도를 3×10^3 cells/mL로 조절한 후 96 well plate에 분주하고, 동시에 농도별(1, 0.5, 0.25 mg/mL)로 제조한 시료를 처리하여 48시간 배양(37°C, 5% CO₂)동안 배양하였다. 배양 후 MTT 용액(5 mg/mL)을 well당 10 µL씩 분주한 다음 4시간 동안 배양하여 formazan을 형성시킨 후, DMSO 100 µL를 첨가하여 formazan을 녹인 후, 540 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

3. 암세포 성장 억제능 측정

암세포 성장 억제능 측정에 사용한 세포주 A-549(폐암세포), Ags(위암세포), Hep3b(간암세포), Hela(자궁경부암세포)는 한국세포주은행(KCLB)으로부터 분양받아 사용하였다.

RPMI-1640에 녹여 농도별로 조제된 시료(최종농도 0.25,

0.5, 1 mg/mL)에 대한 암세포 성장 억제능을 측정하기 위해서 MTT assay를 실행하였다. 각 암세포주의 농도를 3×10^3 cells/mL로 조절한 후 96 well plate에 분주하여 24시간 전배양(37°C, 5% CO₂)후 시료를 각 농도별로 100 µL씩 첨가하여 48시간 동안 배양하였다.

4. Lipopolysaccharide(LPS)에 의한 염증 유발

Lipopolysaccharide(LPS)에 의한 염증 유발은 대식세포 Raw 264.7을 사용하였다. 세포를 4 well plate에 5×10^5 cell/well의 농도로 분주하고, LPS를 1 µg/mL의 농도로 처리하여 24시간 염증상태를 유지시킨 다음 각 시료를 1 mg/mL의 농도로 처리하여 24시간 반응시켰다.

5. Nitric Oxide(NO) 생성 억제 효과

염증을 유발한 Raw 264.7의 상등액을 100 µL를 취해 96 well plate에 넣은 후 Griess reagent(0.1% n-1-naphthylendiamine dihydrochloride, 1% sulfamamide, 1.25% phosphoric acid, Sigma Chemical Co., USA)를 100 µL 첨가해 상온에서 10분 동안 반응 시켜, microplate reader를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

대조군으로 염증을 유발한 후 샘플을 처리하지 않은 처리군을 사용하였다.

6. TNF-α 생성 억제 효과

LPS에 의해 자극된 Raw 264.7 cell의 염증성 사이토카인 TNF-α의 생성을 측정하기 위해 BD OptEIA™ set mouse TNF-α (BD Biosciences, USA)를 이용하여 측정하였다. Capture antibody를 0.2 M sodium phosphate(pH 6.5)에 1:250의 농도로 희석하여 96 well plate에 100 µL씩 분주하고, 4°C에서 overnight 하였다. Wash buffer(0.05% Tween-20을 포함하는 PBS)를 이용하여 96 well plate를 3회 세척하고, assay diluent 200 µL를 첨가하여 37°C에서 1시간 배양한 후 3회 세척하였다. 각 well에 100 µL의 Raw 264.7 배양 상등액과 표준용액을 넣어 37°C에서 2시간 배양하고, 5회의 세척과정을 반복한 후 working detector(Detection antibody와 SAv-HRP reagent를 1:250의 농도로 assay diluent에 희석)를 100 µL 첨가해 37°C에서 1시간 동안 반응시켜 7회 세척과정을 반복하였다. 세척 과정 후 100 µL의 substrate solution(tetramethylbenzidine와 hydrogen peroxide를 1:1로 혼합)을 고루 분주하여 30분 동안 실온의 암실에서 반응시킨 후, 각 well에 stop solution(1 M H₃PO₄)을 50 µL씩 고루 분주하여 microplate reader 450 nm 흡광도에서 측정하였다.

7. 통계 처리

모든 자료는 SPSS program에 의해 일원배치 분산분석과

이원배치 분산분석을 이용하여 분석하였다. 사후 분석 다중 비교는 Duncan's multiple range test를 이용하여 실험군의 평균값 간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 세포 독성

후무사, 대석, 피자두의 세포 독성을 조사하기 위해서 Raw 264.7 세포에 0.25, 0.5, 1.0 mg/mL 농도의 추출물을 처리하고 MTT assay를 수행한 결과는 Fig. 1과 같다. 각 추출물의 최고 농도인 1.0 mg/mL에서 Raw 264.7 세포가 생존하였고, 오히려 20% 이상의 세포증식을 보여 세포 독성이 없는 것으로 조사되었다.

2. 암세포 성장 억제능 측정

우리나라 주요 품종별 자두 후무사, 대석, 피자두의 교반, 초음파 추출물의 암세포 증식 억제 효과를 평가하기 위해 인체 유래 암세포주인 폐암(A549), 위암(Ags), 자궁경부암(Hela) 및 간암(Hep3B) 세포주를 이용한 결과는 Fig. 2~Fig. 5와 같다.

초음파 병행 추출과 교반 추출 방법을 이용하여 추출된 자두 세 품종의 추출액은 측정된 3가지 암세포에서 생육을 억제하였는데, 대석 초음파 추출물은 가장 낮은 농도인 0.25 mg/mL에서도 폐암세포의 성장을 20% 이상 억제하였다. 모

든 처리구에서 품종별 농도별 유의한 억제 효과를 보였고, 특히 대석 추출물 고농도 처리군(1 mg/mL)에서는 초음파 병행 추출물이 교반 추출물에 비해 약 9% 이상의 억제 효과를 보여 초음파를 이용하여 추출하는 방법에 암세포 생육을 억제하는 유효성분을 추출하는데 효과적인 것을 알 수 있었다.

위암 세포인 Ags에 대한 각 추출물의 세포 성장 억제 효과를 검토한 결과, 농도 의존적으로 세포의 성장을 억제하였고, 특히 피자두 초음파 병행 추출물은 가장 높은 37% 억제 효과를 나타내었다. Kim *et al*(2004)이 생육 시기별 피자두의 Ags 증식 억제 효과를 조사한 결과에 따르면 미숙과에서 숙성이 될수록 암세포의 생육을 저해하는 효과가 작아져 과숙기에는 뚜렷한 저해 효과를 찾을 수 없다고 보고하였는데, 이는 본 실험과 다소 상이한 결과로 이는 실험에 사용된 자두의 숙성도 차이에 의한 추출물 속 유효 성분의 의한 영향이라 사료된다.

자궁경부암 세포인 Hela에 대한 각 추출물의 세포 성장 억제 효과를 검토한 결과, 1 mg/mL 첨가 시 품종 간 유의한 차이를 보이며, 후무사 초음파 추출물은 40%, 교반 추출물 36%, 대석 초음파 추출물 50%, 교반 추출물 48%, 피자두 초음파 추출물 26%, 교반 추출물 25%의 억제 효과를 나타내었고, 대석 추출물에서 비교적 높은 저해 효과를 보였다. 이와는 다르게 Han *et al*(2007)에 보고에 의하면 인체 유두종 바이러스 유래 자궁경부암세포주인 Hela 세포증식에 미치는 자두의 유기 용매 추출물로 솔담의 에틸아세트 분획물을 도출하였는데, 이는 유효 성분의 함량 차이로 사료되며, 이에 대한 정확한 효과를 구명하기 위해 자두 성분들에 대한 물질 분석 연구도 필요할 것이라 사료된다.

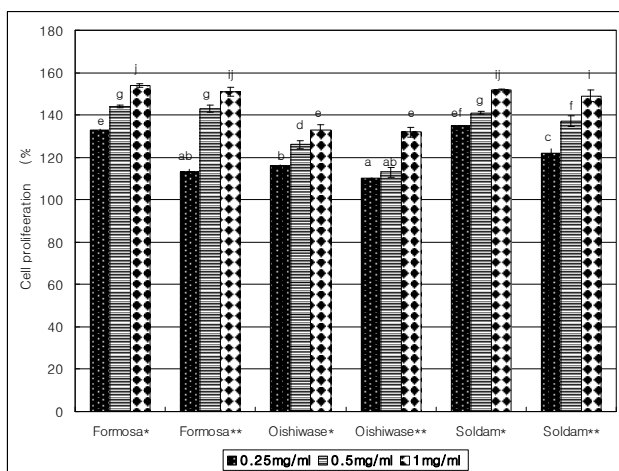


Fig. 1. The proliferation effects of Korean plum extracts on Raw 264.7 cells.

* Ultrasonification extracts at 60°C.

** Shaking extracts at 60°C.

The control proliferation was 100%.

Values are means (n=3).

Different superscript in each column indicates the significant differences in the mean at $P < 0.05$.

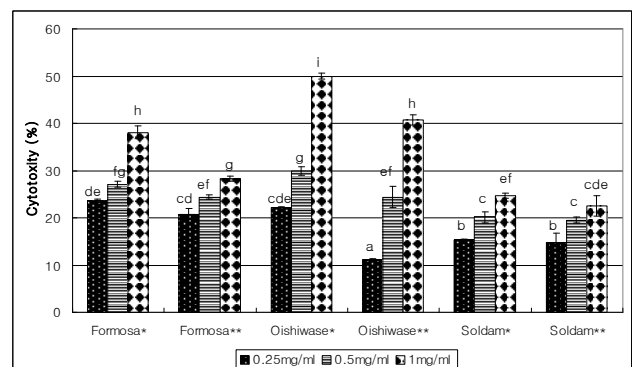


Fig. 2. The cytotoxic effects of Korean plum extracts on A549 cells.

* Ultrasonification extracts at 60°C.

** Shaking extracts at 60°C.

The control cytotoxic was 0%.

Values are means (n=3).

Different superscript in each column indicates the significant differences in the mean at $P < 0.05$.

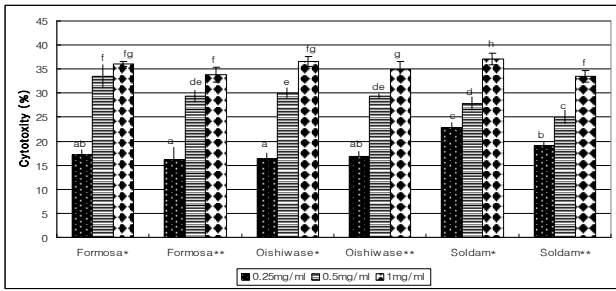


Fig. 3. The cytotoxic effects of Korean plum extracts on A9 cells.

* Ultrasonification extracts at 60°C.

** Shaking extracts at 60°C.

The control cytotoxic was 0%.

Values are means (n=3).

Different superscript in each column indicates the significant differences in the mean at $P < 0.05$.

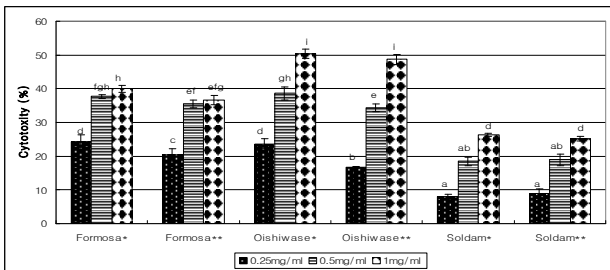


Fig. 4. The cytotoxic effects of Korean plum extracts on Hela cells.

* Ultrasonification extracts at 60°C.

** Shaking extracts at 60°C.

The control cytotoxic was 0%.

Values are means (n=3).

Different superscript in each column indicates the significant differences in the mean at $P < 0.05$.

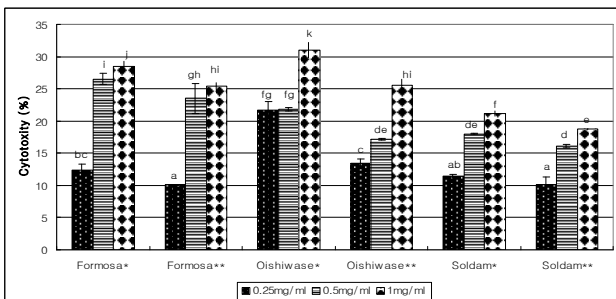


Fig. 5. The cytotoxic effects of Korean plum extracts on Hep3B cells.

* Ultrasonification extracts at 60°C.

** Shaking extracts at 60°C.

The control cytotoxic was 0%.

Values are means (n=3).

Different superscript in each column indicates the significant differences in the mean at $P < 0.05$.

간암 세포인 Hep3B에 대한 각 추출물의 세포 성장 억제 효과를 검토한 결과, 1 mg/mL 처리했을 때 품종 간 유의한 차이를 보였으며, 대석 초음파 추출물에서 가장 높은 억제 효과를 보였다. Kim *et al*(2004)의 연구 결과에 따르면 생육 시기별 피자두의 간암세포 HepG2에 대한 억제 효과를 조사한 결과, 자두 추출물 1 mg/mL 농도에서 38% 이상의 저해 효과를 보인 것과는 다소 상이한 결과였는데, 이는 피자두가 숙성됨에 따라 존재하는 catechins이 감소하여 나타나는 활성변화라 사료된다(Yu *et al* 2009).

3. Nitric Oxide(NO) 소거 측정

NO는 활성산소 중에 하나이며, NO 합성효소에 의해 L-arginine으로부터 생성되는 무기유리체로 면역반응, 세포 독성, 신경전달계 이완 등 여러 가지 생물학적 과정에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 농도에 따라 세포기능 유지에 중요한 작용을 하기도 하고, 세포 독성을 일으키기도 한다 (Moncada *et al* 1991, Nathan & Xie 1994). LPS 자극에 의해 생성된 NO는 세포 독성뿐만 아니라, 염증반응, 세포의 돌연변이 및 종양 발생 등에도 관여하며, 염증에 의한 조직 손상 시 NO의 분비가 증가되었다는 연구 결과가 보고되었다 (Weisz *et al* 1996). 우리나라 주요 품종별 자두 후무사, 대석, 피자두의 NO 소거에 미치는 영향을 알아보기 위해 LPS로 염증을 유발한 대식세포 NO 분비능을 조사한 결과, 모든 처리군에서 NO의 농도가 감소하였다. 염증을 유발하고 자두 추출물을 처리하지 않은 대조군의 NO 생성농도 35.6 nM에 비교하였을 때, 대석 추출물이 NO의 농도를 가장 많이 감소

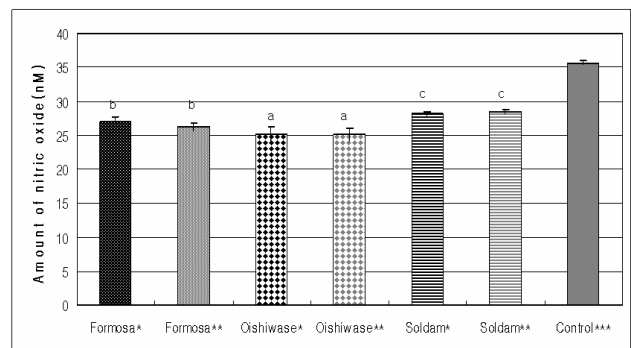


Fig. 6. The inhibition effects of Korean plum extracts on NO production from Raw 264.7 cells.

* Ultrasonification extracts at 60°C.

** Shaking extracts at 60°C.

*** LPS alone.

The LPS concentration was 1 µg/mL.

Values are means (n=3).

Different superscript in each column indicates the significant differences in the mean at $P < 0.05$.

시켜 25.1~2 nM의 농도를 나타내었고, 후무사 추출물은 26.2~26.8 nM, 피자두 추출물은 28.2~28.4 nM의 농도를 나타내었다.

4. Cytokine TNF- α 생성 저해능

LPS는 대식세포의 염증을 유발하는 주요 자극원으로 대식세포는 LPS의 자극에 의해 NO, TNF- α , IL-1 β , Monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) 등을 분비한다. 이중 TNF- α 는 그람 음성 박테리아와 다른 감염성 미생물에 대한 급성 염증반응의 주된 매개자로 너무 많은 양이 분비될 시에는 중증감염의 전신적 합병증의 원인이 된다. 본 연구 결과, 대자두 세 품종의 추출물은 TNF- α 의 분비에는 영향을 미치지 못했는데(Fig. 7), 이는 자두 추출물이 INOS의 신호 전달 체계에는 영향을 미치나, TNF- α 의 신호체계에는 영향을 미치지 못하는 것으로 여겨지며, 이에 대해 염증 관련인자 INOS, Cox-2, NF- κ B, I κ B의 발현 및 PGE-2 등 물질 분비에 대한 추가 연구를 통해 더욱 확인해 봐야 할 것이다.

요약 및 결론

우리나라 주요 품종별 자두의 생리활성 효과를 구명하기 위해 후무사, 대석, 피자두의 추출물을 이용해 암세포 증식에 미치는 영향과 및 LPS로 염증을 유발한 Raw 264.7에 대한 효과를 관찰하였다.

대식세포 Raw 264.7에 대한 세포 독성 측정 결과, 세 품종 추출물 모두 가장 높은 농도인 1 mg/mL에서도 세포 증식능을 보여 세포 독성이 없는 것을 확인하였다.

인체 유래 암세포주인 폐암(A549), 위암(Ags), 자궁경부암

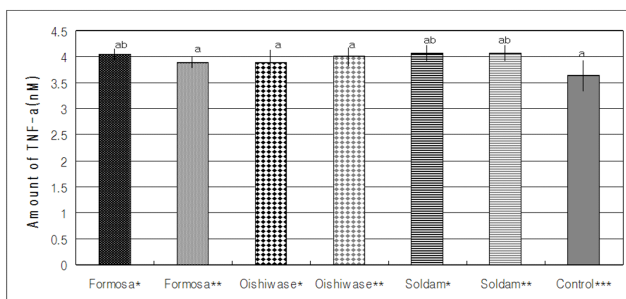


Fig. 7. The inhibition effects of Korean plum extracts on TNF- α production from Raw 264.7 cells.

* Ultrasonification extracts at 60 $^{\circ}$ C.

** Shaking extracts at 60 $^{\circ}$ C.

*** LPS alone.

The LPS concentration was 1 μ g/mL.

Values are means (n=3).

Different superscript in each column indicates the significant differences in the mean at $P < 0.05$.

(Hela) 및 간암(Hep3B) 세포주를 이용하여 성장 억제 효과를 조사한 결과, 모든 세포주에서 다소 차이는 있으나 20% 이상의 암세포 성장 억제 효과를 보였다. 특히 대석 품종은 자궁경부암 세포의 성장에 가장 큰 영향을 미치는 품종으로 50%의 저해 효과를 보였으며, 추출물 제조의 방법으로 초음파 병행 추출이 유효 성분의 추출에 유리한 것으로 밝혀졌다. 자두 세 품종이 갖는 암세포 성장 저해 효과는 이들이 함유하고 있는 Phytochemical의 영향으로 여겨지며, 선행연구에 의하면 자두에 함유된 페놀성 화합물이 항산화, 노화 방지, 고지혈증 억제 및 항종양 작용을 하고(Utsunomiya *et al* 2002, Lee *et al* 2003, Franklin *et al* 2006), 과일 및 채소의 페놀성 화합물이 면역세포에서 INF- γ , IL-5, IL-2 TNF- α 의 분비를 촉진하며(Bu *et al* 2009, Lin & Tna 2008), 채소 및 과일 등의 식물성 식품의 섭취량이 증가할수록 심혈관계 질환에 의한 사망률이 낮아진다(Lee & Do 2005)는 등의 보고에서 뒷받침되고 있다. 다만 Han *et al*(2007)의 자두 추출 분획별 항암 활성 조사 결과에 따르면 세포주의 종류와 추출분획에 따라 항암 활성이 다르고, 핵산, 에틸아세테이트 분획에서 높은 항암 효과를 나타냈지만, 다른 분획 층에서는 별다른 항암효과가 나타나지 않는다는 보고와 같이 후무사, 대석, 피자두의 추출 분획물의 함유 물질의 암세포 성장에 미치는 영향과 그 메커니즘에 대한 추가 연구가 필요하다고 하겠다.

염증을 유발한 대식세포 Raw 264.7에 대한 항염증 효과를 알아보기 위해 NO, TNF- α 의 분비에 미치는 영향을 조사한 결과, 전처리구에서 LPS만을 처리한 대조군구에 비해 NO 생성능이 저해되었고, 세 품종 중 가장 NO의 생성을 억제한 품종은 대석으로 암세포의 성장 억제와 같은 결과를 보여줬다. TNF- α 의 분비능에 대한 조사 결과, 전체적으로 분비 저해에 큰 영향을 미치지 못했는데, 이는 자두 추출물이 INOS의 신호 전달 체계에는 영향을 미치나, TNF- α 의 신호체계에는 영향을 미치지 못하는 것으로 이와 관련하는 염증 관련 물질에 대한 추가 연구를 통해 더욱 확인해 봐야 할 것이다.

이상의 결과에서 우리나라 주요 품종별 자두의 생리활성 효과를 알 수 있었으며, 이러한 우수성 구명을 통해 자두를 소재로 한 면역 강화 식품, 항암 식품 등의 개발과 건강식품으로서 자두의 소비가 촉진될 수 있을 것으로 보인다.

감사의 글

This study was carried out with the support of "Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ006706)", National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

문헌

- Bu SY, Hunt TS, Smith BJ (2009) Dried plum polyphenols attenuate the detrimental effects of TNF- α on osteoblast function coincident with up-regulation of Runx2, Osterix and IGF-I. *J Nutr Biochem* 20: 35-44.
- Franklin M, Bu SY, Lerner MR, Lancaster EA, Bellmer D, Marlow D, Lightfoot SA, Arjmandi BH, Brackett DJ, Lucas EA, Smith BJ (2006) Dried plum prevents bone loss in a male osteoporosis model via IGF-I and the RANK pathway. *Bone* 39: 1331-1342.
- Ham SS (1987a) Desmutagenicity of the enzymatic browning reaction products which obtained from *Prunus salicina* (yellow) enzyme and polyphenol compounds. *J Appl Biol Chem* 30: 71-76.
- Ham SS, Hong EH, Omura H (1987b) Desmutagenicity of enzymatically browned substances obtained from the reaction of *Prunus salicina* (red) enzyme and polyphenols. *Korean J Food Sci Technol* 19: 212-219.
- Han MD, Kweon DH, Kang BT, Lee JW, Yoon OH (2007) The effects of plum extracts on the proliferation of human epithelial cell and human cervical cancer cells. *J East Asian Soc Dietary Life* 17: 710-718.
- Judith AM, Nicholas WV (1994) Dietary fiber content and composition of different forms of fruits. *Food Chem* 51: 39-44.
- Kim HJ, YU MH, Lee SO, Park JH, Park DC, Lee IS (2004) Effects of plum fruits extracts at different growth stages on quinone reductase induction and growth inhibition on cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1445-1450.
- Kim SN, Kim MR, Cho SM, Kim SY, Kim JB, Cho YS (2012) Antioxidant activities and determination of phenolic compounds isolated from oriental plums (Soldam, Oishiwase and Formosa). *Nutr Res Pract* 6: 277-285.
- Laura P, Katri P, Karin B, Riitta K (2007) Prune juice has a mild laxative effect in adults with certain gastrointestinal symptoms. *Nutr Res* 27: 511-513.
- Lee IS, Kim HJ, Yu MH, Im HG, Park DC (2003) Antimicrobial activities of "Formosa" plum at different growth stages against pathogenic bacteria. *Korean J Food Preserv* 10: 569-573.
- Lee JW, Do JH (2005) Antioxidative activity of ethanol extraction fraction from the Korean red tall ginseng. *Korean J Food Sci Technol* 37: 816-821.
- Lee SH, Lillehoj HS, Cho SM, Chun HK, Park HJ, Lim Cl, Lillehoj EP (2009) Immunostimulatory effects of oriental Plum (*Prunus salicina* Lindl). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 32: 407-417.
- Lee SJ, Jung MJ, Shin JH, Sung NJ (2000) Effect of natural plant components on the nitrite-scavenging. *J Appl Biol Chem* 15: 88-94.
- Lin JY, Tna CY (2008) Total phenolic contents in selected fruit and vegetable juices exhibit a positive correlation with interferon- γ , interleukin-5, and interleukin-2 secretions using primary mouse splenocytes. *J Food Compos Anal* 21: 45-53.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA (1991) Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43: 109-142.
- Nathan C, Xie QW (1994) Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 78: 915-918.
- Peng ZF, Strak D, Baumert A, Subramaniam R, Goh NK, Chia TF, Tan SW, Chia LS (2003) Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L. *Phytochem* 62: 219-228.
- Shin JH, Kang MJ, Yang SM, Kim HS, Sung Nj (2002) Contents of nitrate and nitrite in vegetables and fruits. *J Fd Hyg Safety* 17: 101-105.
- Tomas-Barberan FA, Gil MI, Cremin P, Waterhous AL, Hess-Pierce B, Kader AA (2001) HPLC-DAD-EMIS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *J Agric Food Chem* 49: 4748-4760.
- Utsunomiya H, Takekoshi S, Gato N, Utatsu H, Motley ED, Eguchi K, Fitzgerald TG, Mifune M, Frank GD, Eguchi S (2002) Fruit-juice concentrate of Asian plum inhibits growth signals of vascular smooth muscle cells induced by angiotensin II. *Life Sci* 72: 659-667.
- Weisz A, Cicatiello L, Esumi H (1996) Regulation of the mouse inducible-type nitric oxide synthase gene promoter by interferon-gamma, bacterial lipopolysaccharide and NG-monomethyl-L-arginine. *Biochem J* 316: 209-215.
- Yu MH, Lee SO, Lm HG, Kim HJ, Lee IS (2004) Antioxidant activities of *Prunus salicina* Lindl. cv. Soldam (Plum) at different growth stages. *Korean J Food Preserv* 11: 358-363.
- Yu MH, Im HG, Kim HI, Lee SI (2009) Induction of apoptosis by immature plum in human hepatocellular carcinoma. *J Med Food* 12: 518-527.