

## Ferulic Acid와 관련 페놀화합물의 암세포주에 대한 독성억제효과

한두석 · 전주원 · 전성우 · 백승화<sup>#</sup>

원광대학교 치과대학 구강해부학교실, 한의학전문대학원 한약자원개발학과

(Received May 6, 2005; Revised June 24, 2005)

## The Inhibitory Effect of Ferulic Acid and Related Phenolic Compounds against Cancer Cell Lines

Du Seok Han, Joo Won Chun, Sung Woo Jeon and Seung Hwa Baek<sup>#</sup>

Department of Oral Anatomy, School of Dentistry and Department of Herbal Resources,

Professional Graduate School of Oriental Medicine and Institute of Basic Natural Science, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

**Abstract** — The inhibitory effect of ferulic acid and related phenolic compounds on the growth of normal cell lines and cancer cell line was evaluated by the MTT and XTT methods. Ferulic acid decreased the cell viability of human skin melanoma cells by the MTT method and the cell adhesion activity of human oral epithelioid carcinoma cells by the XTT method. These results suggest that ferulic acid has a potential anticancer activity.

**Keywords** □ Inhibitory effect, phenolic compounds, MTT and XTT methods, ferulic acid, cell viability, cell adhesion activity

페놀화합물은 치환될 수 있는 수산기를 가진 방향족 고리 구조를 가지고 있는 이차 대사산물의 총칭으로 화학적으로 이질적인 것이 많으며 지용성, 수용성 및 중합체 등 여러 가지 형태로 나타난다. Syringic acid는 shikimic acid pathway에 의해서 생합성되는 페놀성 화합물로서 최근에는 세계각국에서 각종 약용식물로부터 분리하고 있다.<sup>1-6)</sup> Syringic acid의 약리작용에 관한 연구는 거의 없는 실정이나 항산화작용과 DPPH radical-scavenging activity에 관한 연구가 있다.<sup>7,8)</sup> Syringic acid의 에스테르 유도체인 phenylethanoid glycoside는 강한 항산화작용을 나타내는데 이 작용은 syringic acid의 방향족 메틸기(aromatic methoxy groups)의 수, 수산기(hydroxy groups) 및 아실기의 구조와 주로 관련되며 acyl moiety 또는 phenylethanoid moiety에서 메틸기에 의한 수산기의 대체나 sugar chain의 변형시에는 항산화 작용은 감소한다고 보고하였고,<sup>7)</sup> 페놀산인 gallic acid가 건강세포보다 암세포에 선택적으로 세포독성이 강하게 작용하는 기전

을 밝히기 위한 연구에서 gallic acid는 세포주기의 결과에 의하여 선택성을 나타내지 세포주기의 어느기에 영향을 주지 않으며 gallic acid의 구조의 변화 즉 phenolic hydroxyl group의 메틸화와 carboxyl group의 에스테르는 세포독성을 분명히 감소시키며 각종세포에 대한 gallic acid의 신호전달로는 세포 내 칼슘 이온과 활성산소(ROS)에 의하여 변화하나 gallic acid에 의하여 유도되는 세포사 전달로는 세포에 따라 다르다고 보고하였으며 또한 암세포를 간세포와 함께 배양하면 세포사가 유도되지 않으며 gallic acid에 저항하는 세포는 gallic acid의 세포독성에 대하여 자신을 보호하거나 저항물질을 생산할 것으로 추측하였다.<sup>9,10)</sup> 방향족 메틸기, 수산기 및 아실기(C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>)의 구조를 갖는 syringic acid가 항산화작용이 있고 gallic acid와 유사한 구조를 갖고 있으므로 정상세포보다 암세포에 세포독성이 강하게 나타날 것으로 판단되어 syringic acid를 NIH3T3 섬유모세포와 인체 피부섬유모세포에 농도별로 적용하고, 암세포인 인체 피부흑색종세포와 인체 구강유상피암세포에도 농도별로 적용하고 48시간이 지난후 세포 생존율을 알아보기 위하여 MTT 정량분석법을, 세포부착능을 알아보기 위하여 XTT 정량분석법을 실시하고 실험과정의 모든 세포를 광학 현미경적으로 관찰하여 보고하는 바이다.

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 063-850-6225 (팩스) 063-841-4893  
(E-mail) shbaek@wonkwang.ac.kr

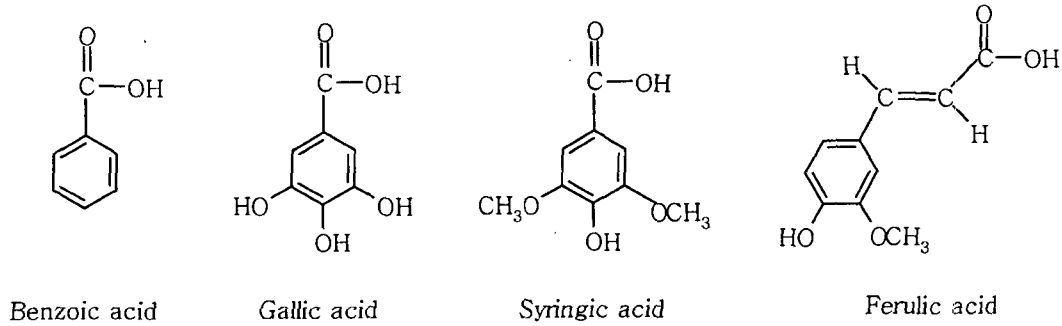


Fig. 1 - Molecular structures of benzoic acid, gallic acid, syringic acid and ferulic acid.

## 실험재료 및 방법

### 시약

세포배양에 사용한 Minimum Essential Medium(MEM)과 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM), RPMI 1640 배지, fetal bovine serum, penicillin, streptomycin, fungizone 시약은 Gibco/BRL(Grand Island, NY, USA)제이었으며, 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT, Sigma Chemical Co.) 정량과 2,3-bis-[2-Methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxamide(XTT, Sigma Chemical Co.) 정량에 사용한 시약과 syringic acid, benzoic acid, gallic acid와 ferulic acid는 (구조식 Fig. 1)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)사에서 구입하였다.

### 실험기기

세포의 배양은 CO<sub>2</sub> incubator(Shellab. Co., Cornelius, U.S.A.)를 사용하였으며, 세포수의 계산은 Turk형 혈구계산기(Marienfeld Co., Mergentheim, Germany)를 이용하였다. MTT 정량, XTT 정량에는 ELISA reader(Spectra max 250, Molecular Devices, Sunnyvale, U.S.A.)를 사용하였다.

### 세포배양

Syringic acid 자체의 세포독성과 암세포에 대한 세포독성을 측정하기 위하여 원광대학교 의과대학에서 분양받은 NIH3T3 섬유모세포주는 MEM 배지에, 서울대학교 세포은행에서 분양받은 인체 피부섬유모세포(Detroit 551)는 DMEM 배지에, 서울대학교 암연구소에서 분양받은 인체 피부흑색종세포(SK-MEL-3)와 인체 구강유상피암종세포(KB)는 RPMI 1640 배지에 10% fetal bovine serum, penicillin(25 unit/ml) 및 fungizone을 첨가하여 사용하였다. 세포의 배양은 온도 37°C, 습도 95%, 탄산가스 농도 5%의 배양기(CO<sub>2</sub> incubator, Shellab, Cornelius, U.S.A.)를 사용하였다. 실험을 위하여 일차 배양한 flask의 세포를 0.25% trypsin-EDTA로 처리하여 세포를 분리한 후, Turk형 혈구계산

기를 이용하여 세포수가 5×10<sup>4</sup> cells/ml가 되도록 세포부유액을 만들었다.

### MTT 정량분석법

Mosmann의 방법<sup>11)</sup>에 의하여, NIH3T3 섬유모세포와 인체 피부섬유모세포, 인체 피부흑색종세포 및 인체 구강유상피암종세포를 각 배양용기에 5×10<sup>4</sup> cells/ml로 넣고 24시간 배양 후 ferulic acid와 관련 페놀화합물 자체의 세포독성과 암종세포에 대한 syringic acid의 세포독성을 측정하기 위하여 ferulic acid와 관련 페놀화합물을 농도별(1, 25, 50 및 100 μM)로 첨가한 후 48시간 배양한 후 분석 당일 조제한 MTT(Sigma Chemical Co.) 50 μg/ml가 포함된 배양액을 배양용기당 1 ml씩 넣어 3시간 배양하였다. 배양 후 배양액을 버리고, dimethylsulfoxide(DMSO)를 2 ml/well씩 넣어 5분간 실온 방치하여 MTT formazan을 용해한 후, 흡광도는 분광광도계 ELISA reader로 MTT의 흡광도 540 nm를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

### XTT 정량분석법

Laminin-coated plate는 laminin 1 mg을 PBS 2 ml에 용해하여 냉장고에 보관하면서 필요시에 laminin의 농도(20 mg/ml)를 결정하여 찬 PBS 용액으로 희석하고 이 용액을 24 well plate의 각 well에 200 μl씩 분주하여 하룻밤 동안 건조시킨 뒤 PBS로 두 번 세척하여 3% BSA를 각 well에 200 μl씩 첨가해 잘 흔들어 준 다음 제거하고 PBS로 두 번 정도 세척하였다.

배양된 NIH3T3 섬유모세포, 인체 피부섬유모세포, 인체 구강유상피암종세포 및 인체 피부흑색종세포 5×10<sup>4</sup> cells/ml로 laminin으로 coating한 배양용기에 넣고 24시간 배양한 후 MTT 정량분석법과 같은 방법으로 ferulic acid와 관련 페놀화합물을 넣고 다시 48시간 배양한 후 배지는 조심스럽게 제거하고 PBS로 두 번 세척하였다. 여기에 XTT(Sigma Chemical Co.)와 혼합하여 각 배양용기에 200 μl씩 주입하고 4~6시간 동안 배양한 뒤 ELISA reader로 흡광도 450 nm에서 측정하였다.

**세포의 광학현미경적 관찰**

광학현미경적 관찰을 위하여 NIH3T3 섬유모세포와 인체 피부섬유모세포, 인체 구강유상피암종세포 및 인체 피부흑색종세포는 각각 세포분주 후 ferulic acid와 관련 페놀화합물을 처리한 후 MTT와 XTT를 처리하기 전에 도립현미경(Inverted microscope Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

**IC<sub>50</sub> 결정**

니켈의 IC<sub>50</sub> 결정은 배양중인 인체 치은섬유모세포를 각 배양 용기당 5×10<sup>4</sup> cells/ml씩 넣고 24시간 배양 후 1, 25, 50, 100 μM의 ferulic acid와 관련 페놀화합물을 첨가하여 48시간 배양한 후 MTT 정량과 XTT 정량을 하여 ferulic acid이 이들 각각에 대한 50% 억제농도인 IC<sub>50</sub>을 회귀방정식<sup>12)</sup>에 의해 구하였다.

**통계처리**

실험결과의 통계처리는 Students' t-test에 준하였고, p-value가 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

**결과 및 고찰**

페놀화합물의 세포독성은 화합물의 분자구조에 따라, 활성관계가 유의성있게 관찰되며, 페놀화합물의 치환기중에 수산기의 메틸화 또는 소실은 세포독성이 제거되기 때문에 페놀성수산기는 세포독성에 필수적이라 생각된다.<sup>13)</sup> Table I에서 세포생존율을 MTT 정량분석법으로 측정된 결과에 의하면, NIH 3T3 섬유모세포와 인체 피부섬유모세포(Detroit 551)에 대한 세포독성은 901 μM~3,341 μM 범위로 관찰되었다. NIH 3T3 섬유모세포에서 세포생존율은 benzoic acid에서 1,226 μM 농도로 가장 강한 세포독성이었다. 그러나 benzoic acid의 3, 4, 5번 위치에 수산기가 치환된 gallic acid에서는 세포독성이 약 2배 정도 약한 활성이 측정되었지만, gallic acid의 3, 5번 위치에 methoxy기로 치환된 syringic acid(3,341 μM)에서는 gallic acid의 세포독성보다 약

한 세포독성이 관찰되었으며, 이는 benzoic acid의 세포독성보다 2.7배 약한 세포독성이 측정되었다. 그러나 benzoic acid에서 3-methoxy, 4-hydroxy로 치환된 벤젠고리와 propenoic acid기로 치환된 ferulic acid는 syringic acid의 세포독성 보다 강한 2,753 μM 농도로 관찰되었다. 이와 같이 benzoic acid에서 electron-withdrawing group(hydroxy 그룹)이 치환된 phenolic acid는 electron-donating group(methoxy 그룹)이 치환된 phenolic acid보다 세포독성이 강하게 측정되었다. Benzoic acid의 세포생존율은 NIH 3T3 섬유모세포보다 인체 피부섬유모세포가 901 μM 농도로 강하게 관찰되었다. 인체 피부섬유모세포에서는 gallic acid의 세포독성이 benzoic acid보다 약 2.4배 약하게 관찰되었으며, 이는 NIH 3T3 섬유모세포보다 강한 세포독성으로 관찰되었다. 그러나 syringic acid에서는 gallic acid의 세포독성보다 오히려 강한 세포독성(1,173 μM)이 관찰되었으며, 이는 benzoic acid의 세포독성보다 1.3배 약한 세포독성으로 NIH 3T3 섬유모세포보다 강한 세포독성이 측정되었다. 그러나 ferulic acid는 syringic acid의 세포독성 보다 약한 2,130 μM 농도로 관찰되었다. 일반적으로 MTT 정량분석법에서 인체 피부섬유모세포는 901 μM~2,158 μM 농도범위로 NIH 3T3 섬유모세포보다 세포독성이 강하게 측정되었다.

인체 구강유상피암종세포(KB)에 대한 세포독성은 NIH 3T3 섬유모세포와는 달리 syringic acid(282 μM)에서 12배의 강한 세포독성이 관찰되었으며, 특이하게 인체 구강유상피암종세포는 benzoic acid에 메톡시그룹이 3, 5번 위치에 치환과 4번 위치에 hydroxy그룹이 치환된 syringic acid의 세포독성이 가장 강하게 측정되었으며, 방향족고리에 메톡시그룹이 3번 위치에 치환되었으며, 치환된 ferulic acid는 약간 낮은 세포독성(334 μM)이 나타났다, 그렇지만 benzoic acid(420 μM)에 3, 4, 5번 위치에 hydroxy로 치환된 gallic acid(472 μM)의 세포독성은 오히려 약한 세포독성이 관찰되었다. 일반적으로 인체 구강유상피암종세포(KB)에 대한 세포독성(282 μM~472 μM)은 NIH 3T3 섬유모세포(1,226 μM~3,341 μM)와 인체 피부섬유모세포(Detroit 551; 901 μM~2,158 μM)에 대한 세포독성보다 강한 활성이 관찰되었다. 따라서 인체 구강유상피암종세포(KB)에 대한 세포독성의 민감성은 syringic acid>ferulic acid>benzoic acid>gallic acid 순서로 감소되어 관찰되었다.

인체 피부흑색종세포에 대한 세포독성은 인체 구강유상피암종세포와는 달리 ferulic acid(143 μM)에서 강한 세포독성이 측정되었다. 이는 ferulic acid가 benzoic acid의 벤젠고리 3, 4번 위치에 치환된 methoxy, hydroxy 그룹과 함께 1번 위치에 propenoic acid기로 치환된 그룹에 근거할 것으로 생각된다. benzoic acid의 벤젠고리 3, 4, 5번 위치에 hydroxy 그룹으로 치환된 gallic acid(168 μM)가 ferulic acid보다는 약한 세포독성이 관찰되었으나, 큰 차이는 없었다. 그렇지만 다른 정상세포와 암

**Table I** - The cytotoxic activity of phenolic acid by the MTT method

Compound	IC <sub>50</sub> (μg/ml) <sup>a</sup>			
	NIH 3T3	Detroit 551	KB	SK-MEL-3
Benzoic acid	1,225.8	900.6	419.9	501.9
Gallic acid	2,552.4	2,158.3	471.7	168.4
Syringic acid	3,340.9	1,172.9	282.3	501.6
Ferulic acid	2,753.0	2,130.0	334.0	143.0

<sup>a</sup>IC<sub>50</sub> value of compound against each cancer cell line which was defined as a concentration (μg/ml) that caused 50% inhibition of cell growth *in vitro*. Compounds were examined in four concentrations in triplicate experiments. NIH 3T3: NIH 3T3 fibroblasts. Detroit 551: Human skin fibroblasts. KB: Human oral epithelioid carcinoma cells. SK-MEL-3: Human skin melanoma cells.

세포와는 달리 인체 피부흑색종세포에서는 benzoic acid와 syringic acid의 세포독성(502  $\mu\text{M}$ )은 거의 유사한 활성이 검색되었다. 인체 피부흑색종세포는 인체 구강유상피암종세포와는 다르게 세포독성에 대한 민감성이 ferulic acid>gallic acid>benzoic acid=syringic acid 순서로 감소되어 관찰되었다.

일반적으로 세포의 활성검색에 가장 많이 사용되는 MTT 정량분석법으로 정상세포와 암세포에 대한 세포독성을 측정한 결과는 NIH 3T3 섬유모세포>인체 피부섬유모세포(Detroit 551)>인체 구강유상피암종세포(KB)>인체 피부흑색종세포(SK-MEL-3)와 같은 민감성으로 관찰할 수가 있었다(Table I).

세포부착능을 측정한 XTT 정량분석의 결과에 의하면, NIH 3T3 섬유모세포와 인체 피부섬유모세포(Detroit 551)에 대한 세포부착능은 975  $\mu\text{M}$ ~2,462  $\mu\text{M}$  범위로 관찰되었다. NIH 3T3 섬유모세포에서 세포부착능은 benzoic acid에서 1,292  $\mu\text{M}$  농도로 가장 강한 활성이 관찰되었다. 그러나 benzoic acid의 3, 4, 5번 위치에 수산기가 치환된 gallic acid(2,446  $\mu\text{M}$ )에서는 세포부착능이 약 1.9배 정도 약한 활성이 측정되었지만, gallic acid의 3, 5번 위치에 methoxy기로 치환된 syringic acid(2,462  $\mu\text{M}$ )에서는 gallic acid의 세포부착능과 거의 비슷한 활성이 측정되었다. 그러나 benzoic acid에서 3-methoxy, 4-hydroxy로 치환된 벤젠고리와 propenoic acid기로 치환된 ferulic acid는 syringic acid와 gallic acid의 세포부착능의 활성과 큰 차이(1.7배)없이 생물검색이 관찰되었다. 이와같은 실험결과에 의하면, benzoic acid에서 electron-withdrawing group(hydroxy 그룹)이 치환된 gallic acid는 electron-donating group(methoxy 그룹)이 치환된 syringic acid보다 세포부착능이 약한 강하게 측정되었으며, benzoic acid의 벤젠고리 3, 4번 위치에 치환된 methoxy, hydroxy그룹과 함께 1번위치에 propenoic acid기로 치환된 ferulic acid는 약간 세포부착능이 강하게 관찰되었다. NIH 3T3 섬유모세포에 대한 세포부착능의 민감성은 benzoic acid>ferulic acid>gallic acid>syringic acid 순서로 감소되어 관찰되었다.

인체 피부섬유모세포(Detroit 551)에 대한 세포부착능의 검색 결과에 의하면, benzoic acid의 세포부착능은 NIH 3T3 섬유모세포(1,292  $\mu\text{M}$ )보다 인체 피부섬유모세포가(975  $\mu\text{M}$ ) 농도로 강하게 관찰되었다. 인체 피부섬유모세포에서는 gallic acid의 세포부착능이 benzoic acid보다 약 2.1배 약하게 검색되었으며, 그러나 syringic acid에서는 gallic acid의 세포부착능보다 오히려 강한 활성(1,111  $\mu\text{M}$ )이 관찰되었으며, 이는 benzoic acid의 세포부착능보다 1.1배 약한 활성으로 NIH 3T3 섬유모세포보다 2배 정도 강한 세포부착능이 측정되었다. 그러나 ferulic acid는 syringic acid의 세포부착능 보다 약한 1,474  $\mu\text{M}$  농도로 관찰되었다. NIH 3T3 섬유모세포와는 달리 인체 피부섬유모세포에서는 가장 약한 활성이 나타났다. 인체 피부섬유모세포에 대한 세포부착능의 민감성은 benzoic acid>syringic acid>ferulic acid>gallic acid 순

**Table II** – The cytotoxic activity of phenolic acid by the XTT method

Compound	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) <sup>a</sup>			
	NIH 3T3	Detroit 551	KB	SK-MEL-3
Benzoic acid	1,292.8	974.6	375.5	464.4
Gallic acid	2,445.6	2,035.1	216.6	512.7
Syringic acid	2,462.4	1,110.9	418.8	438.0
Ferulic acid	2,125.0	1,747.0	184.5	311.6

<sup>a</sup>IC<sub>50</sub> value of compound against each cancer cell line which was defined as a concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) that caused 50% inhibition of cell growth *in vitro*. Compounds were examined in four concentrations in triplicate experiments. NIH 3T3: NIH 3T3 fibroblasts. Detroit 551: Human skin fibroblasts. KB: Human oral epithelioid carcinoma cells. SK-MEL-3: Human skin melanoma cells.

서로 감소되어 관찰되었다. 일반적으로 XTT 정량분석법에서 인체 피부섬유모세포는 NIH 3T3 섬유모세포보다는 세포부착능이 강하게 관찰되었다.

인체 구강유상피암종세포(KB)에 대한 세포부착능은 다른 세포와 다르게 가장 유효한 억제효능이 있는 것으로 관찰되었으며, ferulic acid의 세포부착능은 benzoic acid의 벤젠고리에 치환된 phenolic acid보다 세포부착능에 대한 활성이 강하게 나타났다. Gallic acid의 세포부착능이 benzoic acid보다 강한 활성이 나타났으며, gallic acid의 벤젠고리에 3, 5번 위치에 methoxy 그룹으로 치환된 syringic acid에서 약한 세포부착능이 관찰되었다. MTT 정량분석법으로 세포독성을 측정한 인체 구강유상피암종세포에 대한 활성과는 다른 효능을 관찰되었다. 이런 현상은 분자구조에 따른 세포활성에 기인하는 것으로 생각된다. 일반적으로 MTT 정량분석법에서 측정된 세포에 대한 활성과는 다르게 강한 효능을 관찰되었다. 따라서 인체 구강유상피암종세포에 대한 민감성도 ferulic acid>gallic acid>benzoic acid>syringic acid 순서로 감소되어 관찰되었다.

인체 피부흑색종세포(312  $\mu\text{M}$ ~464  $\mu\text{M}$ )에 대한 세포부착능은 일반적으로 인체 구강유상피암종세포(185  $\mu\text{M}$ ~419  $\mu\text{M}$ )에 대한 세포부착능보다 약한 활성이 관찰되었다. 인체 구강유상피암종세포에 대한 세포부착능과 같이 ferulic acid에서 강한 활성이 관찰되었으며, gallic acid는 benzoic acid보다 약한 세포부착능이 나타났으나, syringic acid는 활성이 약간 강하게 측정되었다. 인체 피부흑색종세포에 대한 민감성도 ferulic acid>syringic acid>benzoic acid>gallic acid 순서로 감소되어 관찰되었다(Table II).

## 결론

이상의 연구결과를 종합해보면, 비색분석법으로 Phenolic acid에 대한 세포의 활성을 측정한 결과는 분자구조에 따라 활성이 다르게 관찰되었으며, 일반적으로 XTT 정량분석법으로 측정된

활성은 MTT 정량분석법으로 측정된 활성보다 강한 생물검색이 관찰되었으며, XTT 정량분석법으로 측정된 세포중에서 인체 구강유상피암세포에 대한 세포부착능으로 ferulic acid에서 가장 강한 활성과 MTT 정량분석법으로 측정된 세포독성도 인체 피부흑색종세포에서 가장 강한 활성이 검출되었다. 이와같은 현상은 phenolic acid에서 electron-withdrawing group과 side chain이 증가하면서, conjugated system을 소유한 분자구조의 페놀유도체가 세포에 대한 활성이 클것으로 생각된다.

### 감사의 글

이 논문은 2004년도 원광대학교의 교비지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- 1) Cao, Y., Lou, C., Fang, Y. and Ye, J. : Determination of active ingredients of *Rhododendron dauricum* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *J Chromatogr.* **943**, 153 (2002).
- 2) Xu, L., Liu, J., Min, D., Wang, S., Zhang, Z., Guo, D. and Zheng, K. : Chemical constituent. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **23**, 293 (1998).
- 3) Kong, L. D., Abliz, Z., Zhou, C. X., Li, L. J., Cheng, C. H. and Tan, R. X. : Glycosides and xanthine oxidase inhibitors from *Conyza bonariensis*. *Phytochemistry* **58**, 645 (2001).
- 4) De Heredia, J. B., Torregrosa, J., Dominguez, J. R. and Peres, J. A. : Kinetic model for phenolic compound oxidation by Fenton's reagent. *Chemosphere.* **45**, 85 (2001).
- 5) Andrade, P. B., Oliveira, B. M., Seabra, R. M., Ferreira, M. A., Ferreres, F. and Garcia-Viguera, C. : Analysis of phenolic compounds in Spanish Albarino and Portuguese Alvarinho and Loureiro wines by capillary zone electrophoresis and high-performance liquid chromatography. *Electrophoresis* **22**, 1568 (2001).
- 6) Dawidar, A. M., Ezmiriy, S. T., Abdel-Mogib, M., el-Dessouki, Y. and Angawi, R. F. : New stilbene carboxylic acid from *Convolvulus hystrix*. *Pharmazie.* **55**, 848 (2000).
- 7) Heilmann, J., Calis, I., Kirmizibekmez, H., Schuhly, W., Harput, S. and Sticher, O. : Radical scavenger activity of phenylethanoid glycosides in FMLP stimulated human polymorphonuclear leukocytes: structure-activity relationships. *Planta Med.* **66**, 746 (2000).
- 8) Hirota, A., Taki, S., Kawaii, S., Yano, M. and Abe, N.: 1,1-Diphenyl-2-picrylhy-drazyl radical-scavenging compounds from soybean miso and antiproliferative activity of isoflavones from soybean miso toward the cancer cell lines. *Biosci Biotechnol Biochem.* **64**, 1038 (2000).
- 9) Li, Z., Inou, M., Nose, M., Kojima, K., Sakaguchi, N., Isuzugawa, K., Takeda, T. and Ogihara, Y. : Metabolic fate of gallic acid orally administered to rats. *Biol. Pharm. Bull.* **22**, 326 (1999).
- 10) Sakaguchi, N., Inoue, M. and Ogihara, Y. : Reactive oxygen species and intracellular  $Ca^{2+}$ , common signals for apoptosis induced by gallic acid. *Biochem. Pharmacol.* **55**, 1973 (1998).
- 11) Mosmann, T. : Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **65**, 55 (1983).
- 12) 채영암, 구자옥, 서학수, 이영만 : 기초생물학, 향문사, p. 179 (1991).
- 13) Inoue, M., Suzuki, R., Sakaguchi, N., Li, Z., Takeda, T., Ogihara, Y., Jiang, B. Y. and Chen, Y. : Selective induction of cell death in cancer cells by gallic acid. *Biol. Pharm. Bull.* **18**, 1526 (1995).