

인진쑥 추출물의 항산화 및 항암 활성

정미정 · 윤유 · 허성일 · 왕명현*

강원대학교 생명공학부

Antioxidant and Anticancer Activities of Extract from *Artemisia capillaries*

Mee Jung Jung, Yu Yin, Seong-II Heo, and Myeong-Hyeon Wang*

School of Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Kangwon-do, 200-701, Korea

Abstract – *Artemisia capillaries* is a major important food and medicinal resource in Korea. In order to confirm the biological activities of *Artemisia capillaries*, we investigated antioxidant and anticancer activities from *in vitro* assays. The *Artemisia capillaries* methanol (MeOH) extracts was used for the evaluation of DPPH scavenging, total phenolic content, total flavonoid content, hydroxyl radical (\bullet OH) scavenging, reducing power assay as antioxidant activity, as well as anticancer activities as MTT assay. As a result, the *Artemisia capillaries* MeOH extracts showed potent antioxidative activity and anticancer activity *in vitro*. These results suggest that the *Artemisia capillaries* MeOH extracts have a potential alleviated oxidation process, cell motility activity, and tumorigenesis.

Keywords – *Artemisia capillaries*, antioxidant, anticancer, MeOH extracts

쑥은 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본으로서 우리나라 전역에서 봄철부터 자생하는 번식력이 강하며 주로 산비탈이나 빈터 등지에서 번식하며 줄기는 뭉쳐나고 허부는 반 관목상으로서 높이는 50-100 cm 정도 자라는 것으로 알려져 있다.¹⁻³⁾ 예로부터 우리나라는 한방에서 200여종의 생약재가 암 환자에게 처방되어 왔으며, 특히 쑥은 항암 치료와 관련한 식용식물로서 우리나라에서 많이 섭취되고 있고 이러한 쑥의 성분 및 약리작용에 대해서도 많이 보고되어 있다.⁴⁻¹¹⁾ 민간요법에서는 쑥의 전초를 말려 진정제, 경련, 마비, 전신강직 등의 치료에 사용하여 왔으며 한방에서는 이기혈, 지혈, 한습, 이담 등의 효과가 있어서 복통, 토혈, 만성간염, 식욕부진 및 만성 위장염 등에 이용되어 왔으며, 이외에도 피부병, 호흡기 및 신경계 질환 등의 치료에도 이용되어 왔다.^{2, 7, 12-19)}

한편 한방에서 주로 이용하는 쑥으로 참쑥(*Artemisia mongolica*), 약쑥(*Artemisia vulgaricus*), 인진쑥(*Artemisia capillaries*) 및 개똥쑥(*Artemisia annua*) 등을 들 수 있는데 이들 중 인진쑥은 냇가의 모래땅에서 자라며 높이는 약 30~100 cm이며 겨울에 죽지 않고 이듬해 줄기에서 다시 싹이 나온다고 해서 사철쑥 또는 정경쑥이라고도 부른다.¹⁾ 또

한 인진쑥은 다른 쑥에 비해 ethanol 추출물이 뛰어난 항산화 활성을 보이며⁷⁾ scoparone, capilarthemisin A와 B, cirsimaritin, genkwanin, rhamnocitrin 등 4종의 flavonoids 생리활성 물질을 가지고 있다고 알려져 있다.¹⁰⁾

산화적 스트레스를 유발시키는 자유라디칼은 수많은 화합물의 방사능, 화학적 반응 및 여러가지 산화, 환원 반응 등 내적 요인과 흡연, 음주, 스트레스, 대기오염 등 외적요인에 의해 생성되며, 살아있는 조직과 세포에 있어 단백질 산화, DNA 손상 및 지질 과산화의 원인이 되고 있다.^{20,21)} 이러한 결과로 인해 암, 동맥경화, 당뇨병, 간경변과 같은 인체 질병이 발생하게 되고,²²⁾ 이러한 각종 질병들을 치료하고자 지금까지는 다양한 화학요법이 시술되어 왔으나 이에 따르는 부작용도 간과할 수 없는 것이 사실이다. 그러므로 최근에는 비교적 부작용이 적은 것으로 알려진 천연소재 특히 우리가 먹을 수 있는 먹거리를 대상으로 암을 비롯한 각종 질병을 치료 또는 예방하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

따라서 본 연구에서는 기능성 식품소재 혹은 의약품으로서 인진쑥 Methanol (MeOH) 추출물을 이용하고자 우리나라에서 가장 빈번히 발생하고 있는 위암 그리고 결장암 세포인 NCI-N87 및 HT-29 cell line을 각각 이용하여 항암 활성을 측정하였다. 또한 항산화 활성을 1,1-diphenyl-2-

*교신저자 (E-mail): mhwang@kangwon.ac.kr
(FAX): 82-33-241-6480

picrylhydrazyl (DPPH), hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$), 환원력, 총페놀 함량 및 총플라보노이드 함량 실험으로 측정을 하여 보다 구체적으로 인진쑥의 식의약품으로의 이용 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료의 추출 - 본 실험에서 사용한 인진쑥은 2008년 1월에 강원도 정선군에서 구입하여 불순물을 제거하고 건조시킨 후, 5-10 mm의 크기로 분쇄하여 이중 인진쑥 38 g을 MeOH로 48시간 동안 추출, 여과하여 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결, 건조한 시료를 사용하였다.

세포주 및 배양 - 실험에 사용한 세포주는 암세포로 사람의 위암세포 NCI-N89(stomach cancer cell, human)와 결장암세포 HT-29(colon carcinoma cell, human)를 사용하였으며, 또한 정상세포에서의 세포 독성을 확인하고자 사람의 신장세포 293(kidney normal cell, human)를 이용하여 세포 독성을 측정하였다. NCI-N89 및 HT-29 cells은 RPMI-1640 배지에 10% FBS(10% heat inactivated fetal bovine serum)와 1% 항생제(penicillin G/streptomycin)을 첨가하여 배양하였다. 293 cell은 DMEM(dulbecco's modified eable medium) 배지에 10% FBS와 1% 항생제를 첨가하여 배양하였다. 이들 세포주는 37에서 5% CO_2 에 적응시켜 배양하였으며, 2~3 일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

DPPH radical 소거활성 측정 - DPPH radical 소거 실험은 광범위하게 쓰이는 간단하고 편리한 항산화 검색법으로, 특히 phenol과 aromatic amine 화합물의 항산화능 측정에 많이 사용된다.²³⁾

각 시료의 DPPH radical에 대한 소거능 측정은 각 농도별 시료 (1.25~320 mg/ml)를 MeOH에 녹여 160 ml씩 취하여 1.5×10^{-4} M 의 DPPH MeOH 용액 40 ml와 잘 혼합한다. 이 반응 혼합액을 실온에서 30분간 방치한 후, multiplater spectrophotometer ELx800TM (BioTek, USA)로 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 음성 대조군과 비교하여 자유라디칼 소거활성은 백분율로 나타내고, 50% 저해 농도(IC_{50})를 계산하였다. 측정치는 3회 반복 실험의 평균값으로 나타내었다.

총페놀성 및 총플라보노이드 화합물 함량측정 - 총페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법²⁴⁾에 의해 비색 정량하였다. 즉, 시료 1 ml에 Folin-reagent 1 ml를 가하여 3분간 정지한 후 10% Na_2CO_3 1 ml를 혼합하고 1시간 실온에서 방치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid (sigma Co., USA)를 이용하여 작성하였다.

총플라보노이드 함량은 Davis변법²⁵⁾을 이용하였다. 시료 용액 1 ml에 diethylene glycol 10 ml 및 1N NaOH 1 ml를

가하고 잘 혼합한 후 30°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 검량곡선은 quercetin(Sigma Co., USA)을 이용하여 작성하였다.

환원력의 측정 - Elmastas 등의²⁶⁾ 방법에 의거하여 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 각각의 농도별로 조제한 시료 0.1 ml에 0.2 M 인산 완충액 (pH 6.8) 0.25 ml과 1% potassium ferricyanide [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] 0.25 ml을 넣은 다음, 50°C에서 20분간 반응시킨다. 반응 후, 0.25 ml의 10% trichloroacetic acid를 첨가하고 1000 rpm 10분간의 원심분리를 통하여 얻어진 상정액에 0.1%의 FeCl_3 0.05 ml을 넣어서 발색반응을 유도시킨 다음, multiplate spectrophotometer (ELx800TM, BioTek, USA)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$\bullet\text{OH}$ 소거활성 - $\bullet\text{OH}$ 은 활성산소 중에서도 강력한 것으로서, $\bullet\text{OH}$ 을 소거하는 효과는 항산화제로서의 의의가 크다고 할 수 있다. Fenton 반응으로 $\bullet\text{OH}$ 을 생성시키고, 생성된 $\bullet\text{OH}$ 에 의해 핵산의 구성당인 deoxyribose가 분해하는 정도를 TBA발색법을 이용해 측정한다.²⁷⁾ 10 mM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 mM EDTA, 10 mM 2-D-deoxyribose 용액을 각각 200 ml와 시료용액 200 μl , 0.1 mM H_2O_2 200 ml를 넣어 37°C에서 4시간 동안 반응을 진행시키고 2.8% trichloroacetic acid 1 ml을 넣고 반응을 정지시킨 후 1% thiobarbituric acid 1 ml을 첨가하여 100°C에서 10분간 가열시킨 후 급속히 냉각시켜 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

MTT assay - 사철쑥 추출물의 암세포 및 정상 신장세포의 증식 억제 효과는 Green 등²⁸⁾의 방법에 따라 MTT assay를 이용하여 시행하였다. MTT 분석은 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 10% fetal bovine serum 및 각각의 NCI-N87와 HT-29를 함유하는 RPMI 1640배지와 293을 함유하는 DMEM배지를 5×10^5 cells/ml 농도로 200 μl 씩 각 well에 첨가하여 72시간 동안 배양 (37°C, 5% CO_2)시킨 후 0.2M 이하의 DMSO로 녹인 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 시료를 첨가하여 48 시간 동안 다시 배양하였다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 새로운 배지와 MTT 용액을 50 ml씩 첨가해 4시간 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 MTT 염색액은 네 번 정도 행구어, 건조시킨 후 DMSO 150 μl 로 염색제를 녹인 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

DPPH radical 소거활성 - 인진쑥의 MeOH 추출 수율 및 DPPH free radical 소거 활성을 측정한 결과는 Table I에 나타내었다. 인진쑥 MeOH 추출 수율은 건시료 38 g을 MeOH 추출한 후 추출 용매를 제거하여 무게를 잰 결과 7.27 g을 얻어 총 수율 19.13%로 좋은 추출효율을 보였다.

Table II. Extraction efficiency and DPPH free radical scavenging activity of *A. capillaries* MeOH extract

Sample	Extraction efficiency			DPPH ^a
	Sample weight (g)	Extract weight (g)	Product ratio (%)	
MeOH extract	38	7.27	19.13	11.09±0.14

^aDPPH used for testing free radical scavenging activity (IC₅₀: mg/ml)

항산화 활성 중 DPPH radical 에 대한 인진쑥의 소거활성은 IC₅₀ 11.09±0.14 µg/ml로 매우 높은 항산화 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 인진쑥 MeOH 추출물이 항산화 활성이 뛰어난 뿐만 아니라 추출물의 회수율도 높아 항산화제로의 이용가능성 측면에서도 매우 좋을 것으로 사료된다. 일종의 염료인 DPPH는 자신이 가지는 홀수 전자 때문에 520 nm에서 특징적인 강한 흡수 패턴을 보인다. 그러나 phenolic compound와 같이 수소나 전자를 제공해주는 전자공여체와 반응하면 이로부터 전자나 hydrogen radical을 받아 phenoxy radical을 생성하게 된다. 이때 특징적인 흡수 패턴이 사라지고 안정한 분자로 전환된다. 즉, 공여된 전자는 비가역적으로 결합하며, 그 수에 비례하여 진보라색의 DPPH의 색이 노란색으로 변하여 흡광도의 감소를 측정함으로써 라디칼 소거활성을 관찰할 수 있어 많은 식물 추출물들의 항산화 활성을 측정하는데 사용할 수 있다. Kwoen 등²⁹⁾은 여러 조건에서 상황버섯을 추출한 후 DPPH radical을 측정 후 IC₅₀ 17.14 µg/ml의 결과 값을 얻어 상황버섯 추출물이 뛰어난 항산화제임을 제시하였다. 이와 같은 결과를 미루어 인진쑥은 상황버섯보다 더 뛰어난 항산화제로 이용가능성을 확인할 수 있었다.□

총페놀성 및 총플라보노이드 함량 - 식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 화합물은 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지므로 단백질 및 거대분자들과 쉽게 결합하여, 항암 및 항산화 활성과 같은 다양한 생리활성을 나타낸다.^{30,31)} 따라서 본 실험에서는 사철쑥의 항산화 및 항암 활성을 알아보기 위하여 사철쑥 메탄올 추출물의 총페놀성 및 총플라보노이드 화합물 함량을 측정 후 그 결과를 Table II에 나타내었다. 사철쑥의 총페놀 함량은 60.07±0.89 mg/g이며, 총플라보노이드 함량은 20.86±0.42 mg/g으로 나타났다. Heo 등³²⁾에 따르면 한국에 자생하는 약용 식물의 경우 총 페놀 함량이 30 mg/g이상이면 뛰어난 항산화 활성을 나타낸다고 하였다. 이러한 결과를 토대로 사철쑥의 경우 60 mg/g의 총페놀 함량을 보이므로 상당한 항산화 활성을 나타냄을 확인할 수 있었으며, 총페놀 중 플라보노이드가 상당수 존재함을 확인할 수 있었다.

환원력 측정 - 항산화 활성을 측정하는 것은 식품 혹은

Table II. Total phenolic and flavonoids content of *A. capillaries* MeOH extract

Sample	Total phenolic content (mg/g)	Total flavonoid content (mg/g)
MeOH extract	60.07±0.89	20.86±0.42

의약품의 연구에 있어 가장 일반적인 건강기능성을 측정하는 지표라고 할 수 있다. 인진쑥의 식품 또는 의약품으로의 연구 가치를 측정하는 가장 기초적인 단계로서, 본 실험에서는 인진쑥의 메탄올 추출물의 환원력을 Fe³⁺를 Fe²⁺로 환원시키는 활성을 지표로 측정하였다.³³⁾ Fig. 1에서 나타나는 바와 같이 인진쑥의 환원력은 50-500 µg/ml의 농도에서는 0.058, 0.136, 그리고 0.627의 흡광도를 보여 농도 의존적으로 환원력을 보임을 확인할 수 있었다. 그러나 동일 농도 (50-500 µg/ml) 에서 항산화제로 널리 쓰이는 Vit E(0.129, 0.297, 1.096)보다는 약한 환원력을 나타냄을 알 수 있었다.

·OH 소거활성 측정 - ·OH은 수용액에서 강산 반응성을 나타내어 지질산화를 개시하고 DNA에 손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있고 생체의 대사과정에서 생성되는 기질의 과산화물이나 과산화수소가 Fe²⁺나 Cu²⁺이온의 존재 하에서 생성되며 가장 독성이 강한 자유라디

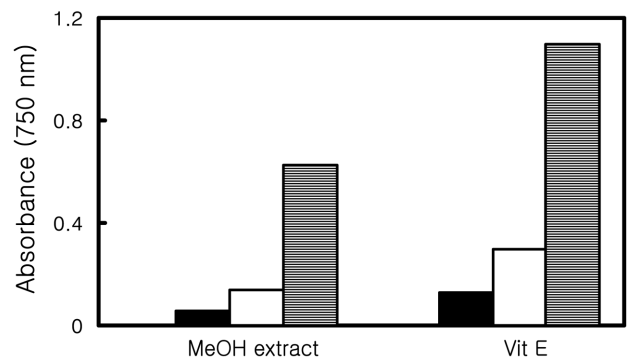


Fig. 1. Reducing power of *A. capillaries* MeOH extract (■:50 µg/ml; □:100 µg/ml; ▨:500 µg/ml concentration)

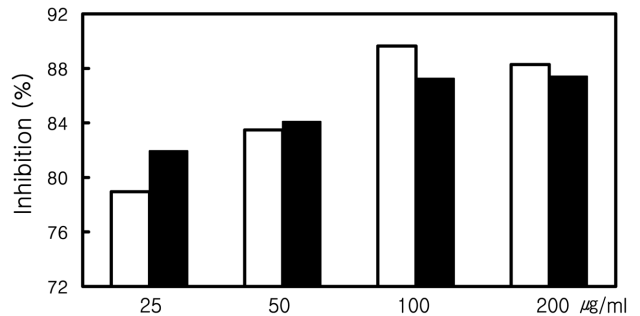


Fig. 2. Hydroxy radical scavenging activity of *A. capillaries* MeOH extract (□:*A. capillaries* MeOH extract; ■:Vit E)

Table III. Growth inhibitory effect on the human normal and cancer cells of *A. capillaries* MeOH extract

Sample	Extraction efficiency	Growth inhibition (%)		
		293	NCI-N87	HT-29
MeOH extract	300 µg/ml	-	67.15±2.26	48.72±5.37
Paclitaxel	5 µg/ml		37.97±6.08	68.02±17.35
10% DMSO		71.55±17.91		

칼로서 소거하는 정도를 측정하였다.²⁷⁾ 대조군으로는 항산화제로 알려져 있는 Vit E를 사용하였다. Fig 2.에서 보여주는 바와 같이 인진쑥은 20 µg/ml의 저농도에서도 70% 이상의 라디칼 억제능을 보였다. 오히려 100 µg/ml 이상의 고농도에서는 활성이 감소함을 확인할 수 있었다.

인진쑥 추출물의 암세포 증식 억제 효과 - 항암활성을 측정하는 방법 중 MTT 검색법은 96-well plate를 사용하며 그 결과를 ELISA reader(Multiwell microplate reader)를 이용하여 많은 시료를 간단하게 판독할 수 있어 세포독성 및 세포증식을 검색하는 법으로서 sulforhodamin B(SRB)검색법과 더불어 널리 사용되고 있는 분석 방법이다.²⁸⁾ 일반세포와 달리 암세포는 대사과정에서 미토콘드리아의 탈수소 효소 작용에 의해 노란색 수용성 MTT tetrazolium을 자주색을 띠는 비 수용성의 MTT formazan으로 환원시킨다. MTT formazan의 흡광도는 550 nm 근처 파장에서 최대가 되며, 대사적으로 왕성한 세포의 농도를 반영하는 것이다.³⁴⁾

Table III.과 같이 실험에 사용된 샘플 농도는 인진쑥 추출물의 경우 300 µg/ml로 조절하였으며 정상세포에 대한 성장 억제력과 각 암세포에 대한 성장 효과를 검토하였다. 인간의 정상 신장 세포인 293에 대한 성장 억제력은 샘플에서는 나타나지 않았으며, 10% DMSO 에서는 71.55±17.91%의 세포 성장 억제력을 나타내었다. 또한 인간의 위암 세포인 NCI-N87와 결장암 세포인 HT-29 세포에서의 샘플은 각각 67.15±2.26% 및 48.72±5.37%의 성장 억제력을 보였다. 이와 같은 결과는 Kwon 등³⁴⁾ 발표한 결과와 비교해 보았을 때 인진쑥이 상당히 뛰어난 항암 활성을 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 일부 강원대학교 생명공학연구소의 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Bae, J. H. (2003) Effect of *Artemisia capillaries* extract on the growth of food-borne pathogens. *Korean J. Food & Nutr.*, **36**:147-153.
- Ahn, B. M. (2000) What is In-Jin-Sook *Artemisia capillaries*, *Artemisia iwayomogi*, and *Artemisia annua*. *Kor. J. Hepatology.*, **6**:548-551.
- Lee, W. Y., Lee S. D., Son, S. I., Chang, H. S., Kim, Y. H., Oh, T. H., Eom, K. D., Chang, K. H., Park, S. C., Yamato, O., Maede, Y. and Lee, K. W. (2003) The effect of *Artemisia capillaries* crude juice extract on CCl₄ induced liver damage in dogs. *J. Vet. Clin.*, **20**:389-395.
- Haha, D. R. and Kim, I. H. (1973) Studies on volatile oil constituents in *Artemisia* sp. isolation and determination of camphor by gas chromatography. *Kor. J. Pharmacog.*, **4**:71-71.
- Kim, O. C. and Jang, H. J. (1994) Volatile components *Artemisia apiaceae* herba. *Agri. Chem. Biotechnol.*, **37**:37-42.
- Lee, S. J., Chung, H. T., Lee, I. K. and Yoo, I. D. (1999) Isolation and identification of flavonoids from ethanol extract of *Artemisia vulgaris* and their antioxidant activity. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**:815-822.
- Lee, S. D., Park, H. H., Kim, D. W. and Bang, B. H. (2000) Bioactive constituents and utilities of *Artemisia* sp. as medicinal herb and foodstuff. *Korean J. Food & Nutr.*, **13**:490-505.
- Rho, T. H. and Seo, G. S. (1993) Growth characteristics and chemical components in local collection of *Artemisia* sp. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **1**:171-177.
- Ryu, S. Y., Kim, J. O. and Choi, S. U. (1997) Cytotoxic components of *Artemisia princeps*. *Plant Medica.*, **63**:384-385.
- Wang, X. J., Sun, H. and Liu, Z. S. (1994) Quantitative analysis of 6,7-dimethylesculetin and capillarisine in *Artemisia capillaries* Thunb. and prescriptions containing the crude drug. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.*, **19**:667-670.
- Wu, T. S., Tsang, Z. J., Wu, P. L., Lin F. W., Li, C. Y., Teng, C. M. and Lee, K. H. (2001) New constituent and antiplatelet aggregation and anti-HIV principles of *Artemisia capillaris*. *Bioorg. Med. Chem.*, **9**:77-83.
- Duke, S. O., Vaughn, K. C., Croom, J. R. and Elsohy, H. N. (1987) Artemisinin, a constituent of annual wormwood (*Artemisia annua*), is a selective phytotoxin. *Weed Sci.*, **35**:499-505.
- Lim, S. S., Kim, M. H. and Lee, J. H. (1997) Effects of *Artemisia princeps* var *Orientalis* and *Cirsium japonicum* var *Ussuriense* on liver function, body liquid and bile acid of hyperlipidemic rat. *Korean J. Nutrition.*, **30**:797-802.
- Kim, Y. S., Bahn, K. N., Hah, C. K., Gang, H. I. and Ha, Y. L. (2008) Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced mouse skin carcinogenesis by *Artemisia capillaris*. *J. Food Sci.*, **73**:16-20.
- Kim, K. S. and Lee, M. Y. (1996) Effects of *Artemisia selenogenesis* methanol extract on ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **25**:581-587.
- Kimura, Y., Okuda, H., Okuda, T., Hatano, Y., Agat, I. and Arichi, S. (1985) Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. VII. Effects of extracts of leaves of *Artemisia* species, and caffeic

- acid and chlorogenic acid on lipid metabolic injury in rats fed peroxidized oil. *Chem. Pharm. Bull.*, **33**:2028-2034.
17. Lee, C. H., Han, K. H., Choi, I. S., Kim, C. Y. and Cho, J. K. (1999) Effect of Mugwort-water extracts on cadmium toxicity in rats. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.*, **19**:188-197.
 18. Lee, C. K. and Seo, J. J. (2003) Antimicrobial activity of the aerial part of *Artemisia capillaries* extracts on the food-borne pathogens. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **32**:1227-1232.
 19. Xu, Q., Moris, H., Sakamoto, O., Uesugi, Y. and Koda, A. (1989) Immunological mechanisms of antitumor activity of some kinds of crude drug on tumor necrosis factor production. *Int. J. Immunopharmacol.*, **11**:607.
 20. Halliwell, B. (1996) Antioxidant in human health and disease. *Annual Reviews in Nutrition.*, **16**:33-49.
 21. Morrissey, P. A. and O'Brien, N. M. (1998) Dietary antioxidants in health and disease. *International Diary Journal.*, **8**:463-472.
 22. Lee, D. J., Kim, K. H., Kang, J. H., Lee, Y. S. and Kim, H. W. (2006) Antioxidant and anticancer activities of methanolic extracts in grains of the korean rice landraces. *J. Intl. Agri.*, **18**:264-269 (2006).
 23. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.*, **181**:1199-1200.
 24. Jayaprakasha, G. K., Negi, P. S., Jena, B. S. and Rao, L. J. M. (2007) Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. *J. Food Compos. and Anal.*, **20**:330-336.
 25. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. And Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal.*, **10**:178-182.
 26. Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I. and Temur, N. (2007) Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *J. Food Compost. Anal.*, **20**: 337-345.
 27. Bu, H. J., Lee, H. J., Yoo, E. S., Jung, D. S., Riu, K. Z. and Lee. S. (2004) Antioxidant effects and inhibitory effect on NO synthesis by extracts of *Canavalia lineate*. *Kor. J. Pharmacogn.*, **35**:338-345.
 28. Green, L. M., Reade, J. L and Ware, C. F. (1984) Rapid colorimetric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. *J. Immunol. Methods.*, **70**:257-268.
 29. Kwoen, D. J., Youn, S. J., Cho, J. G., Choi, U. K. and Kang, S. C. (2006) Antioxidant activities and biological properties of *Phellinus linteus* extract according to different extraction methods. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **49**:91-96.
 30. Choi, S. Y., Lin, S. H., Ha, T. Y., Kim, S. R., Kang, K. S. and Hwang, I. K. (2005) Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plant. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **37**:549-556.
 31. Lee, J. H. and Lee, S. R. (1994) Analysis of phenolic substances content in Korean plants foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**:310-316.
 32. Heo, S. I., Jung, M. J., Kim, M. K. And Wang, M. H. (2007) Antioxidative activities and tyrosinase inhibitory effects of korean medicinal plants. *J. Appl. Biol. Chem.*, **50**:115-119.
 33. Lee, Y. R., Kang, M. Y., Koh, H. J., Chin, J. H. and Nam, S. H. (2004) Screening of physiological functionality of germinated giant embryonic rices. *J. Korean, Soc. Appl. Biol. Chem.*, **47**:216-221.
 34. Park. J. G., Kramer, B. S., Steinber, S. M., Carmichael, J., Collins, J. M., Minna, J. D. and Gazar, A. F. (1987) Chemosensitivity testing of human colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium-based colorimetric assay. *Cancer Res.*, **47**:5875-5897.
 35. Kwon, O. W., Kim, C. H., Kim, H. S., Kwon, M. C., Ahn, J. H., Lee H. J., Kang, H. Y. and Lee, H. Y. (2007) Comparison of immuno modulatory and anticancer activities according to the parts of the *Styrax japonica* Sieb. et Zucc. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **15**:170-176.

(2008 년 6월 26일 접수)