

노간주나무와 유향나무의 초임계 공법으로 추출한 정유의 면역 활성 비교

문형철* · 박진홍* · 김대호* · 유재은* · 김정화* · 김창호* · 김종대* · 박영식** · 이학주*** · 이현용*†

*강원대학교 바이오산업공학부, ** (주)오지텍, ***국립산림과학원

Comparison of Immune Activities of Essential Oils from *Juniperus rigida* S. et Z. and *Boswellia cartei* Birew by Supercritical Fluid Extraction System

Hyoung Chul Mun*, Jin Hong Park*, Dae Ho Kim*, Jae Eun Yoo*, Jung Hwa Kim*,
Chang Ho Kim*, Jong Dai Kim*, Young Sik Park**, Hak Ju Lee***, and Hyeon Yong Lee*†

*School of Biotechnology & Bioengineering, Kangwon Natl. Univ., Chunchon 200-701, Korea.

** O. Z. Tech, Chunchon Bioventure Center, Chunchon 200-801, Korea.

***Lab. of Natural Products Chemistry, Korea Forestry Research Institute, Seoul 130-012, Korea.

ABSTRACT : Essential oils from *Needle Juniperrus* seed and trunk (*Juniperus rigida* Sieb.) and Olibanum resin (*Boswellia cartei* Birew) were extracted by a supercritical fluid extraction system (SFE) and immune activity of each essential oils were observed. The immune activities of each essential oil were compared. Essential oil from *Olibanum resin* enhanced the growth of human immune T cell up to 1.33 times, compared to control group. Each essential oils showed the potent inhibitory effect on the human cancer cell lines, and increased the secretion of cytokines, IL-6 and TNF- α from human B cell as well as the growth of human immune cells.

Key words : *Juniperus rigida* Sieb., *Boswellia cartei* Birew, immune activities, essential oil, supercritical fluid extraction system (SFE), cytokine, differentiation

서 언

동·서양을 막론하고 식품의 맛을 향상시키거나 이취를 없애기 위하여 향이 있는 식물체의 잎 또는 열매 등을 그대로 식품에 첨가하여 향신료로 이용하거나, 성분을 추출·농축하여 이용하여 왔다 (Papadopoulos & Koukos, 1997). 최근 이러한 천연물의 향기성분이 향신료로서의 사용에서 다양한 질병치료제로 거듭나고 있다.

전 세계적으로 향나무과의 일종인 다년생 수목인 노간주나무속은 약 48여종이 분포되어 있으며, 한국, 중국 및 시베리아에 걸쳐 전역에 분포되어 있는 종이다. 노간주나무 (*Juniperus rigida* Sieb.)는 추위에 강하고 해풍에 잘 견디

기 때문에 해안이나 간척지 부근에서 방풍림 또는 풍치림으로 이용되고 있다 (Adams, 1993). 이러한 노간주나무의 종자에서 채취한 기름은 이뇨제 등의 약리적 효과가 있다고 알려져 있으며, insect repellent로 이용하기도 하며, 서양에서는 노간주나무의 열매인 juniper berry를 술에 넣어 향을 이용하였다. 운향목 감람나무과에 속하는 유향은 침술을 이용한 시술 시 향을 이용해 진통 효과를 일으켜 시술이 용이하게 하였다 (Jo et al., 1999; Park et al., 1994). 반면 이러한 노간주나무와 유향나무에 관한 구체적 인 이용분야와 가치가 확인되어 지고 있지 않고 있다.

따라서 본 연구는 위의 두 식물의 줄기 및 열매에서 기존의 추출방법을 통하여서는 추출하기 어려운 essential oil를

† Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr
Received March 10, 2004 / Accepted April 19, 2004

초임계 추출 장치를 이용하여 추출하여, 면역세포의 생육 증진 효과, cytokine 분비량 측정, 항암활성 등의 생리활성 검증을 통하여 이들이 면역 증진제로서의 가능성을 부여 하고, 향후 본 연구 자료들이 식품에 관련된 분야에 바탕 자료로서 가치를 지니게 하기 위해 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

재료 및 초임계 추출조건

본 실험에 사용된 노간주나무 (*Juniperus figida* Sieb.)의 줄기부와 열매는 임업연구원에서 기증 받아 사용하고, 유향(*Boswellia cartei* Birew)은 서울의 경동시장에서

국내산을 구입하여 사용하였다. 각 시료들은 증류수를 이용하여 세척하고 열풍건조기로 건조하였으며, 세정기를 이용하여 절단한 것을 초임계 추출장치를 이용하여 essential oil을 추출하였다. 초임계 추출장치는 Fig. 1과 같은 구조를 갖는 것을 이용하였으며, 초임계 추출장치를 이용하여 추출하기 위해 시료들은 100 g 씩 살균된 거즈를 이용하여 밀봉한 다음 vessel 부에 넣고 추출하였다. 추출조건은 vessel 부의 압력이 3000~3500 psi, 온도는 35~45℃로 유지시켰으며, 총 가압 시간은 시료 투여 후 약 3시간이었으며, 가압 후 추출 시 추출기의 온도는 60℃로 유지하였다. 초임계 추출에 사용된 gas는 열과 압력 그리고 폭발성이 없는 CO₂ gas를 사용하였다.

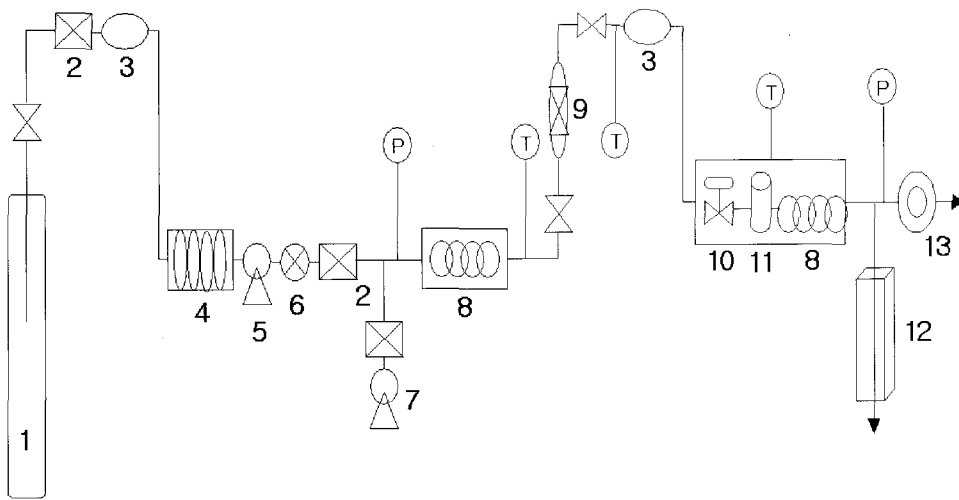


Fig. 1. Schematic diagram of supercritical fluid extraction (SFE) apparatus.

- | | | |
|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| 1. CO ₂ cylinder | 2. Check valve | 3. Filter |
| 4. Cooling bath | 5. High pressure pump | 6. Safety valve |
| 7. Cosolvent pump | 8. Preheater | 9. Extractor |
| 10. Metering valve | 11. Back pressure regulator | 12. Separator |
| 13. Gas meter | P. Pressure gauge | T. Temperature indicator |

시약

세포 배양용 배지로 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)과 RPMI 1640는 GIBCO(USA)사로부터 구입하였고, 혈청인 Fetal Bovine Serum (FBS) GIBCO사의 것을 사용하였으며, gentamycin sulfate, HEPSE buffer는 Sigma (USA)사의 것을 사용하였고, trypsin-EDTA는 GIBCO사의 것을 사용했다. 염색제 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-tetrazolium bromide (MTT)와 sulforhodamine B (SRB)는 Sigma사로부터 구입하여 실험에 사용하였고, potassium phosphate buffer saline (PBS), dimethyl sulfoxide (DMSO), trichloroacetic acid (TCA)는 Sigma사로부터 구입하여 사용하였다.

세포주 및 세포 생육 배지

실험에 이용된 세포주는 면역세포 생육 증진 효과에 인간 면역 세포인 T cell (Jurkat, ATCC, USA)과 B cell (Raji, ATCC, USA)을 이용하여 검증하였고, 항암활성은 인간 폐암 세포인 MCF-7 (Breast adenocarcinoma, human, ATCC, USA)와 인간 간암 세포인 Hep3B (Hepatocellular carcinoma, human, ATCC, USA)를 사용하였고, 세포 분화능 실험에는 인간 전 골수성 세포인 HL-60 (Pro-myelocytic leukemia, human, ATCC, USA)을 사용하였다. 실험에 사용된 세포들은 DMEM과 RPMI 1640배지에 10% heating-inactivated FBS를 첨가시켜 배양하였다.

면역세포 생육 증진 효과 및 cytokine 분비 측정

간 면역 세포인 B cell과 T cell의 생육은 10% FBS를 함유하는 RPMI 1640 배지에서 5% CO₂, 37°C에서 배양하였으며, 면역세포 생육 증진 효과는 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-tetrazolium bromide assay (MTT) 방법 (Michael *et al.*, 1988)에 의하여 실험군의 면역세포 생육 증진 효과를 측정하였다. MTT assay 실험방법은 대상 세포의 농도를 4~5×10⁴ cells/ml의 농도로 조절한 후, 24 well plate에 900 μl씩 첨가하여 24시간 동안 배양 (37°C, 5% CO₂)시킨 후 시료의 최종농도를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/l 로 100 μl씩 첨가하여 48시간 동안 다시 배양 (37°C, 5% CO₂)하였다. 여기에 100 μl의 MTT(50 mg/ml) 용액을 첨가하여 4시간 동안 다시 배양 (37°C, 5% CO₂)하여 formazan을 형성시킨 후, DMSO 900 μl를 첨가하여 formazan을 다시 녹였다. 이후 각 well에서 100 μl씩 취하여 96 well plate에 옮긴 다음 540 nm에서 microplate reader (Molecular Devices, THERMO max, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

한편 T 세포의 cell density는 24 well plate에 세포를 2.0×10⁴ cells/ml의 농도로 조절한 후 시료를 투여하여 8일 동안 배양시켜 각 well의 cell 수를 hemacytometer를 이용하여 1일 간격으로 측정하였다. Cytokine은 IL-6와 TNF-α의 정량은 Chemicon (USA)사의 IL-6와 TNF-α 정량 kit를 사용하여 측정하였다. 우선 세포의 농도를 4~5×10⁴ cells/ml의 농도로 조절한 후 24 well plate에 900 μl씩 첨가하여 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후 시료의 최종농도를 1.0 g/l 로 100 μl씩 첨가하여 다시 배양 (37°C, 5% CO₂)하였다. 배양배지를 원심분리를 이용하여 상등액을 취한 다음 450 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하여 얻어진 O.D값을 표준물질에 의해 작성한 표준곡선과 비교하여 cytokine의 양을 측정하였다.

항암 활성 측정

Sulforhodamine B (SRB) assay (Doll & Peto, 1981)는 세포 단백질을 염색하여 세포의 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 실험 대상 세포를 4~5×10⁴ cell/ml의 농도로 96 well plate의 각 well에 100 μl씩 첨가하여 24시간 동안 배양 (37°C, 5% CO₂)한 후, 각각의 시료를 최종 농도 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/l 로 100 μl씩 첨가하여 48시간 배양하였다. 배양이 완료된 후에 상등액을 제거하고 차가운 10% (w/v) TCA 100 μl를 가하여 4에서 1시간 동안 방치하였다. 이후 증류수로 4~5회 세척하여 TCA를 제거하고 실온에서 plate를 건조한 뒤, 각 well에 1% (v/v) acetic acid에 녹인 0.4% (w/v) SRB용액을 100 μl씩 첨

가하고 상온에서 30분 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 SRB 염색액은 1% acetic acid로 4~5회 정도 세척, 건조시킨 후에 10 mM Tris buffer 100 μl를 첨가하여 염색액을 녹여낸 후 540 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

세포 분화능

인간 전 골수성 세포인 HL-60 (human promyelocytic leukemia) 세포를 4×10⁵ cells/ml의 농도로 24 well plate에 1 ml 접종하여 전 배양하였다. 24시간 간격으로 배지를 제거한 후 세포를 수확하여 320 g에서 10분간 원심 분리하여 침전시킨 다음, 200 μl의 0.1% Triton X-100을 넣어 37°C에서 30분간 용해시켰다. 일정량의 용해액과 0.1% Triton X-100을 20 μl되게 96 well plate에 옮기고, 3 mg/ml의 4-nitrophenyl phosphate가 용해되어 있는 50 mM acetate buffer (pH 0.5)를 100 μl 넣은 후 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응의 정지를 위해 0.1 N NaOH 100 μl를 첨가한 후, microplate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Yen & Guernsey, 1986; Bang *et al.*, 1993). 그리고 각 실험 결과들은 실험군에서 최대치와 최소치를 제외한 자료들의 mean±SD으로 표시하였다.

결과 및 고찰

면역세포 생육 증진 효과

인간 면역체계에서 중요한 역할을 하는 면역세포인 B (Raji, ATCC, USA) cell과 T cell (Jurkat, ATCC, USA)은 세포의 면역에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 그 중 T세포에 대한 면역 증진 효과를 확인하기 위하여

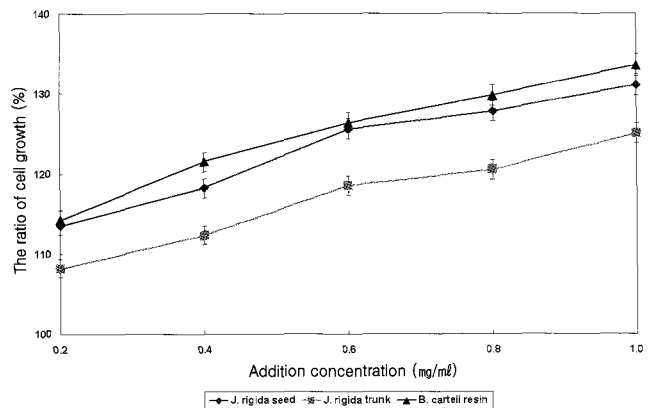


Fig. 2. The cell growth of T cells by adding essential oil from *Juniperus rigida* seed, trunk and *Boswellia cartellii* resin. The results represent mean±SD of five experiments.

MTT 분석 방법을 이용하여 면역 세포의 생육도를 측정하여 Fig. 2에 나타내었다.

초임계 추출방법을 통하여 추출한 각 정유 성분들의 인간 면역 세포 중 하나인 T cell의 생육 증진 활성을 살펴보면 농도 의존적인 경향을 나타내었으며, 시료의 최고 농도인 1.0 g/l의 농도에서 유향 열매의 정유 성분이 control 군에 비하여 약 1.33배의 생육을 증진시켜 가장 높은 활성을 나타내었다. 노간주 열매와 줄기의 정유 성분은 각각 1.31배와 1.25배 T cell의 생육증진 활성을 나타내었다. 그리고 유향 열매의 정유 성분과 노간주 열매의 정유 성분은 0.6 g/l의 농도에서부터 1.25배 이상의 높은 생육 증진 활성을 나타내었다. T cell의 생육도에서 노간주 열매와 줄기의 정유 성분에 비해 유향 열매의 정유 성분이 보다 높은 생육 증진 활성을 나타내었다.

인간의 면역체계는 외부의 항원에 대하여 항체를 생산하여 대응하는 기작을 가지고 있다. 이러한 면역체계가 활성화되면서 외부에서 항원이 침입하여 발생하는 암과 같은 질병 발생에 대하여, 활성화된 면역세포에 의하여 궁극적으로 항암활성이 나타날 것으로 사료되어지는 바이다.

Cytokines 분비 증진 효과

Table 1은 인간 면역세포의 생육 증강도를 뒷받침할 수 있는 자료로 면역세포들이 분비하는 cytokine과 면역세포의 수를 측정할 결과를 나타낸 것이다. 우선 각 시료에 대한 cell density를 살펴보면 모든 시료에서 배양시간 의존적으로 세포농도가 증가하는 것을 보여주었으며 배양 4일째 가장 높은 세포 활성도를 나타내었다. 그 중에서 유향 열매의 정유 성분이 배양 4일째 6.9×10^4 cells/ml로 가장 높은 활성을 나타내었고, 노간주 열매와 줄기의 정유 성분들은 각각 6.3×10^4 cells/ml과 6.1×10^4 cells/ml의 세포 활성을 나타내었다. 각 시료에 대한 세포 당 IL-6의 분비량을 살펴보면, 노간주 열매의 정유 성분이 배양 6일째 3.15×10^{-3} pg/cell로 가장 많은 분비량을 나타내었고, 유향 열매와 노간주 줄기의 정유 성분은 각각 2.9×10^{-3} pg/cell과 2.93×10^{-3} pg/cell의 분비량을 나타내었다. 그리고 각 시료에 대한 세포 당 TNF- α 의 분비량을 살펴보면, IL-6와 다르게 배양 2일째 가장 많은 분비량을 나타내었으며, 그 양은 노간주 열매의 정유 성분이 5.89×10^{-3} pg/cell로 가장 많은 분비량을 나타내었고, 노간주 줄기와 유향 열매의 정유 성분은 각각 5.39×10^{-3} pg/cell과 5.67×10^{-3} pg/cell의 분비량을 나타내었다. 이상의 결과는 앞에서 실시한 면역세포의 생육 증진 활성을 뒷받침하는 자료로서, 면역세포의 생육 증진으로 인하여 면역 체계가 활성화 되면서 cytokine의 분비량도 증가되는 것으로 사료되어진다.

Table 1. Measurement of human T cell growth and secretion of IL-6 and TNF- α in adding various samples.

Sample	Cultivation time (day)	Cell density ($\times 10^4$ /ml)	Quantity of secretion of cytokine ($\times 10^{-3}$ pg/cell)	
			IL-6	TNF- α
<i>J. rigida</i> seed	1	1.0	-	-
	2	3.4	1.77	5.89
	3	6.3	2.90	4.38
	4	4.2	3.15	4.60
<i>J. rigida</i> trunk	1	1.0	-	-
	2	3.1	1.75	5.39
	3	6.1	2.68	3.18
	4	3.9	2.93	3.73
<i>B. cartei</i> resin	1	1.0	-	-
	2	3.8	1.69	5.67
	3	6.9	2.82	4.42
	4	4.8	2.90	4.66

항암 활성

각 시료로부터 초임계 추출한 각각의 정유 성분들의 유향 열매 세포인 MCF-7과 간암 세포인 Hep3B에 대한 생육 저해능을 알아보았으며, 그 결과들은 Fig. 3과 Fig. 4에 각각 나타내었다. 우선 유향 열매 세포인 MCF-7에 대한 각 정유 성분들의 암세포 생육 저해능을 살펴보면, 각각의 정유 성분들을 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/l의 농도로 투여하였다. 각 정유 성분의 투여량이 증가하면서 암세포의 생육 저해능이 증가하는 농도 의존적인 경향을 나타내었다. 가장 활성은 높은 시료는 노간주 열매의 정유 성분으로 0.6 g/l 농도에서부터 약 80%의 높은 생육 억제 활성을 나타내었으며, 또한 1.0 g/l의 농도에서 약 84%의 높은 생육 억제 활성을 나타내었다. 노간주 줄기의 정유 성분과 유향 열매의 정유 성분은 시료 투여 최고 농도인 1.0 g/l의 농도에서 각각 79%와 78%의 높은 암세포 생육 억제 활성을 나타내었다. 간암 세포인 Hep3B에 대한 각 정유 성분들의 암세포 생육 저해능은 유향 열매 세포의 경우와 같이 투여한 정유 성분의 양에 따라 암세포의 생육 저해능이 증가하는 농도 의존적인 경향을 나타내었으며, 가장 활성이 높은 시료는 유향 열매의 정유 성분으로 1.0 g/l의 농도에서 약 83%의 높은 암세포 생육 억제 활성을 나타내었고, 노간주 열매의 정유 성분 또한 1.0 g/l의 농도에서 약 80%의 높은 생육 억제 활성을 나타내었다. 노간주 줄기의 정유 성분은 1.0 g/l의 농도에서 약 75%의 생육 억제 활성을 나타내었다. 이는 앞에서 실시한 면역 활성 결과를

통해 활성화된 면역체계에 의해 항암활성이 증가한 것으로 사료되어지는 바이다.

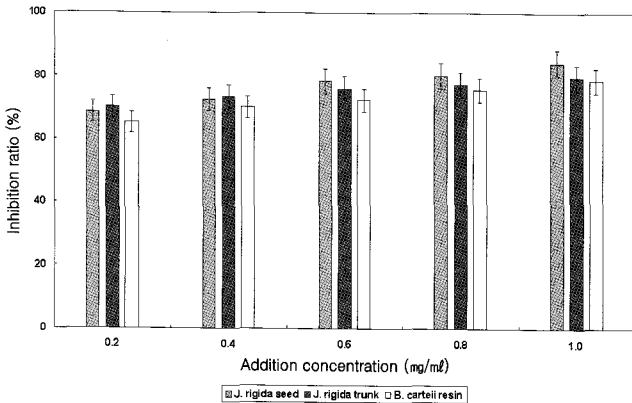


Fig. 3. The inhibition ratio of the growth of human breast adeno-carcinoma (MCF-7) in adding essential oil from *Juniperus rigida* seed, trunk and *Boswellia cartellii* resin. The results represent mean±SD of five experiments.

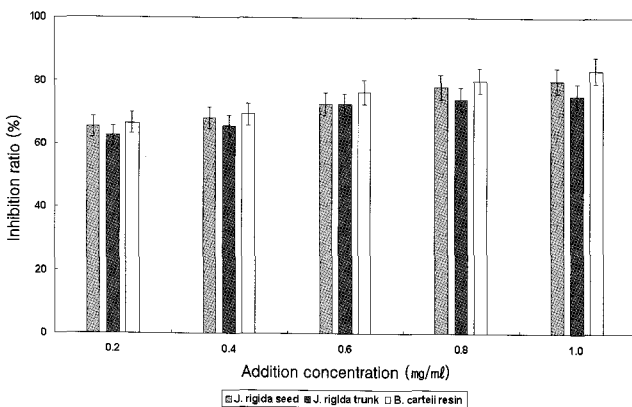


Fig. 4. The inhibition ratio of the growth of human hepatocellular carcinoma (Hep3B) in adding essential oil from *Juniperus rigida* seed, trunk and *Boswellia cartellii* resin. The results represent mean±SD of five experiments.

세포 분화능

본 실험에 사용된 세포는 human promyelocytes (HL-60)인 전골수세포로서 macrophage나 granulocyte로 분화가 되어 사멸하는 기작을 가지고 있다 (Edmund & Wolf, 1985). 세포 분화는 수정란으로부터 유래된 미분화 세포가 특정 형질을 갖는 세포들로 변화되어 가는 과정이며, 이러한 과정은 여러 신호 전달 체계와 유전자의 형질 발현의 조절에 기인한다. 이러한 세포 분화로 인하여 세포와 세포간의 신호전달 체계에 영향을 미쳐 세포의 구조와

기능을 결정짓게 되는 것이다. 이러한 분화 촉진으로 인하여 여러 가지 세포로의 분화를 촉진하게 될 것으로 사료되어지고, 그 중 면역 세포에도 그 효과가 있을 것으로 생각되어지는 바이다.

항암 및 면역기능의 역할에 대한 분자수준에서의 검증을 위해 HL-60 세포의 분화도를 살펴본 결과를 Fig. 5에 나타내었다. HL-60 세포에 각 시료를 1.0 g/l의 농도로 투여한 후, 배양 2, 4, 6일째 HL-60 세포의 분화도를 측정 한 결과이다. 모든 시료들이 배양 시간이 늘어나면서 HL-60 세포의 분화도가 증가하는 것으로 나타났다. 모든 정유 성분들의 HL-60 세포의 분화도는 모두 비교적 낮은 활성을 나타내었다. 유향 열매의 정유 성분이 control 군에 비하여 1.38배의 증진 활성을 나타내어 가장 높은 분화도를 나타내었으며, 노간주 열매와 줄기의 정유 성분은 각각 1.37배와 1.32배의 활성을 나타내었다. 이는 각 시료들이 세포의 분화나 사멸기작에 직접적으로 작용하기보다는 면역체계에서 점진적으로 작용하는 것으로 추측할 수 있다.

이는 각 시료들이 세포의 분화나 사멸기작에 직접적으로 작용하기보다는 면역체계에서 점진적으로 작용하는 것으로 추측할 수 있다. 본 실험을 통하여 얻어진 결과로 인하여 면역기능의 향상과 나아가 항암 활성의 증진 등의 목적으로 하는 기능성 식품의 개발이 가능할 것으로 사료되어지고, 앞으로 보다 폭넓은 연구가 이루어져 보다 다양한 생리 활성의 검증이 필요할 것으로 생각되어지는 바이다.

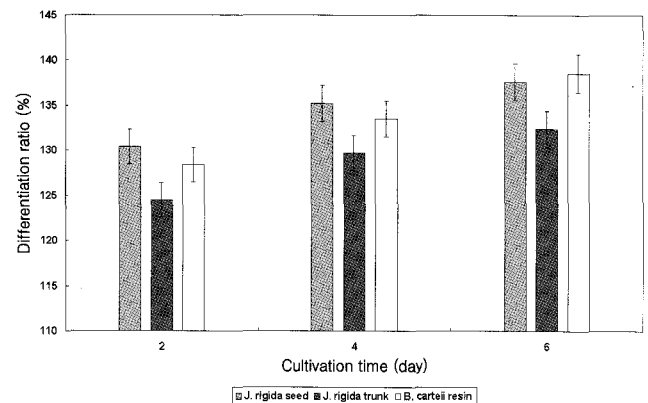


Fig. 5. Differentiation of HL-60 cells after treatment with essential oil from *Juniperus rigida* seed, trunk and *Boswellia cartellii* resin. The results represent mean±SD of five experiments.

적 요

인간 면역 세포 중 하나인 T 세포에 대한 각 시료의 생육 촉진 활성은 시료의 1.0 g/l에서 기준물질로 사용한 유향

열매의 정유 성분이 T 세포의 생육촉진 활성 측정에서 가장 좋은 활성을 나타내었으며, 노간주나무의 열매의 정유 성분이 줄기 부분의 정유 성분보다 높은 생육 촉진 활성을 보였다. T 세포의 각 cell 당 TNF- α 의 분비량을 살펴보면 모든 시료의 정유 성분들이 배양 2일째 최대분비량을 나타내었고, IL-6의 경우는 모든 시료들이 배양 시간 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 유방암 세포인 MCF-7에 대한 각 시료의 생육 억제 활성은 각 정유 성분에 대하여 농도 의존적인 경향을 나타내었으며, 가장 좋은 활성을 나타낸 시료는 노간주나무 열매의 정유 성분으로 약 84%의 높은 생육 억제 활성을 나타내었으며, 유향 열매와 노간주나무 줄기의 정유 성분들도 약 80%에 가까운 높은 생육 억제 활성을 나타내었다. 간암 세포인 Hep3B에 대한 각 정유 성분들의 암세포 생육 억제 활성도 유방암 세포와 같이 각 정유 성분에 대하여 농도 의존적인 경향을 나타내었으며, 유향 열매의 정유 성분이 약 83%의 높은 생육 억제 활성을 나타내어 가장 좋은 활성을 나타내었다. 항암 및 면역기능의 역할에 대한 분자수준에서의 검증은 위해 HL-60 세포의 분화도를 살펴본 결과, 배양 시간 의존적으로 분화도가 증가하는 경향을 나타내었으며, 유향 열매의 정유 성분이 Control 군에 비하여 1.38배의 증진 활성을 나타내어 가장 높은 분화도를 나타내었으며, 노간주 열매의 정유 성분이 줄기의 정유 성분에 비하여 높은 분화도를 나타내었다.

사 사

본 연구는 농림부 벤처형 중소기업기술개발사업(과제관리번호:501022-3)의 지원에 의해 수행되었으므로 이에

심심한 사의를 표하는 바입니다.

LITERATURE CITED

- Adams RP (1993) Juniperus, Flora of North America Editorial Committee, eds. Flora of North America North of Mexico, Oxford University Press, London, UK. Vol 2.
- Bang OS, Lee YS, Kang SS (1993) A possible role of fibronectin on the differentiation of monocyte to macrophage. Korean J. Zool. 36:514-521.
- Doll R, Peto R (1981) The causes of cancer, quantitative estimates of avoidable risks of Cancer in the United States today. J. Natl. Cancer Inst. 66(6):1192.
- Edmund KW, Wolf PS (1985) Induction of fibrinolytic activity in Hela cells by phorbol myristate acetate. J. Biol. Chem. 260(10):6354-6360.
- Jo JO, Kim SM, Kim KS (1999) Analysis of asarone, coumarin and thujone in medicinal plants used in brewing a Korean traditional folk Wine. J. Korean Agric. Chem. and Biotechnol. 42(3):210-217.
- Michael CA, Domnic AS, Ahne M (1988) Feasibility of drug Screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. Cancer Res. 48:589-601.
- Papadopoulos KI, Koukos PK (1997) Essential oils from *Juniperus communis* L. grown in northern Greece: variation of fruit oil yield and composition. J. Essential Oil Research 9:35-29.
- Park DS, Ahn BC, Ahn SJ (1994) The analgesic effect of aqua-acupuncture with *Corydalis tuber*, *Olibanum Mastix* & *Myrrha*. K.A.M.S. 11(1):145-159.
- Yen Y, Guernsey DL (1986) Increased c-myc RNA levels associated with the precommitment state during HL-60 myeloid differentiation. Cancer Res. 46:4156-4161.