

인진속 추출물의 세포독성 효과

김홍태* · 김주완 · 임미경** · 진태원 · 여상건 · 장광호 · 오태호 · 이근우¹

*부산광역시 보건환경연구원, 경북대학교 수의과대학, **경북대학교 생활과학대학

(게재승인: 2007년 9월 10일)

Cytotoxic Effect of *Artemisia capillaris* Extracts on the Cancer Cells on *in vitro*

Hong-Tae Kim*, Ju-Wan Kim, Mee-Kyoung Lim**, Tae-Won Jin, Sang-Geon Yeo, Kwang-Ho Jang, Tae-Ho Oh and Keun-Woo Lee¹

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea,

*Busan Metropolitan City Institute of Health and Environment, Busan 616-810, Korea,

**College of Human Ecology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract : *Artemisia capillaris* THUNB is a perennial herb that belongs to the family *Compositae spp* and the most common plant among the various herbal folk remedies used in treatment of abdominal pain, hepatitis, chronic liver disease, jaundice and coughing in Korea. This experiment was conducted to investigate cytotoxic effects of *Artemisia capillaris* extracts on the Hepa-1c1c7 and Sarcoma 180 cancer cells on *in vitro* experimental tests. On *in vitro* tests using MTT assay and SRB assay, the extracts showed prominent cytotoxic effects on the two kinds of cancer cell lines, respectively. Antitumor effects appeared in the concentration of over 250 µg/mL of both ethanol and ethyl acetate extract, over 500 µg/mL of methanol extract, over 5000 µg/mL in water extract and over 50% cytotoxicity on the Hepa-1c1c7 and Sarcoma 180. The results suggest that *Artemisia capillaris* extracts have prominent cytotoxic effects on the cancer cell lines Hepa-1c1c7 and Sarcoma 180.

Key words : *Artemisia capillaris*, extract, Hepa-1c1c7, Sarcoma 180, MTT assay, SRB assay, cytotoxic effect.

서 론

현대 사회에서 암이 발생하는 원인은 유전적인 요인보다 환경적인 요인이 더 큰 비중을 차지하고 있으며, 특히 식생활에서 오는 발암율은 환경적인 요인의 36%로서 매우 높은 것으로 알려져 있고(4) 또한 식이 중에는 발암 인자 및 항발암 인자가 동시에 함유되어 있어서 이들 성분이 암 발생을 촉진시키거나 억제하기도 한다(10).

현재까지 진행되고 있는 암치료법은 외과적 수술(surgery), 방사선 치료(radiation therapy) 및 화학요법(chemotherapy) 등이 이용되고 있으며 최근에는 면역요법(immunotherapy)이 관심을 끌고 있다.

화학요법의 경우 지금까지 많은 연구가 진행되어 왔으나 대부분의 약물은 그 효과에 상응하는 여러 가지 부작용을 가진 것으로 알려져 있다. 즉, 현재 사용되고 있는 항암성 화학요법제는 대개 정상 세포에 대한 강한 독성, 암세포의 내성 획득, 체내에서의 신속한 분해와 배설 등의 단점을 지니

고 있을 뿐만 아니라 숙주의 방어력에 중요한 역할을 담당하는 임파구 및 골수세포 등도 파괴해 면역 기능 장애 및 조혈 등 심각한 부작용을 나타냄으로써 치료에 한계가 있다는 연구도 보고되어 있다(15). 따라서 화학요법제의 면역세포에 대한 독성을 완화시킬 수 있는 약제의 개발이 암치료 분야에서 가장 절실한 연구과제로 알려져 있다(15).

한편, 암 발생 원인과 발생 기전을 해명하여 암을 예방하고 치료하고자 하는 많은 연구가 진행되어 왔고 면역학 분야의 발전으로 암 백신, 면역요법, 생물학적 제제 등이 암예방 및 치료에 대한 근본적인 가능성을 제시하고 있음에도 불구하고 아직까지 만족할 만한 치료제가 개발되지 않고 있다(12).

이러한 관점에서 인체에 대한 부작용이 적으면서도 좋은 항암효과를 발현하는 암치료제의 개발이 절실히 요구됨에 따라 최근에는 예로부터 질병의 예방 및 치료에 사용되어온 천연물질로부터 항종양성 생리활성 물질을 찾으려는 연구가 체계적으로 진행되고 있으며 또한 기능성 식품에 대한 새로운 계열의 화합물을 찾으려는 항암제 개발 연구가 활발하게 이루어지고 있다(2,3,5,7,9,12,16).

최근에는 암 발생과 전이, 암세포의 생리, 암의 진단과 치료에 대한 연구와 함께 식품을 비롯하여 항암효과를 지니는

¹Corresponding author.
E-mail : kwollee@knu.ac.kr

물질 검색을 통해 새로운 암 치료제가 개발되고 있다. 기능성 식품에 대한 관심이 커지면서 다양한 기능성 식품 소재들이 개발되고 있으며, 한방과 전통 민간요법에 이용되는 항암제와 식이요법을 통하여 천연물질로부터 면역기능을 상승시키고 암세포에만 작용하는 항암제 개발 연구가 활발하다(10).

우리나라에서는 예로부터 한방에서 약 200여 종의 생약제가 암환자에게 처방되었음이 보고되었고(18,20) 이 외 수종의 한약재(22)와 마늘(13), 인삼(21), 도라지(17), 인진쑥(8) 등에서도 항암작용이 보고된 바 있다.

원 등(14)은 일부 약용식물 및 식용식물 추출물의 항암효과에 관한 연구를 보고한 바 있으며 중국과 일본에서도 식용식물의 항암성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

따라서, 본 연구에서는 마우스 간암 세포주(Hepa-1c1c7)와 마우스 육종 세포주(Sarcoma 180)에 대한 인진쑥 추출물의 암세포 증식 억제 효과를 조사하고자 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay와 SRB(Sulforhodamine) assay를 이용하여 세포독성실험을 실시하였다.

재료 및 방법

인진쑥 추출물의 조제 및 농도 설정

대구광역시 약령시장의 한약 견제상에서 2004년 5월부터 2006년 5월까지 건조된 인진쑥을 구입하여 이물질을 제거하고 깨끗이 한 다음 제분기로 분쇄하여 분말을 얻었다. 이러한 인진쑥 분말 100 g에 ethanol, methanol, ethyl acetate 및 증류수 1000 mL을 가하여 항온수조(37°C)에서 140 rpm으로 24시간 진탕한 후 저온 원심분리기(4°C)에서 3,000 rpm으로 20분간 원침하였다. 이 후 각 상층액을 여과한 추출물을 회전 진공 농축기(Heidolph®, Laborota 4000, Germany)에서 농축하여 완전 건조시킨 후 동결건조시켜 인진쑥 ethanol, methanol, ethyl acetate 및 물 추출물을 얻었으며 이러한 인진쑥 추출물들은 -20°C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였고 각 추출물의 농도는 1, 10, 25, 50, 75, 100, 250, 500, 1000, 5000 µg/mL로 설정하였다.

암세포주, 세포배양 배지 및 세포배양

실험에 사용되었던 암세포주는 Hepa-1c1c7(KCLB 22026, 마우스 간암 세포)과 Sarcoma 180(KCLB 40066, 마우스 육종 세포)으로 한국세포주은행(KCLB, Korean Cell Line Bank)에서 분양받아 사용하였다.

마우스 간암 세포와 마우스 육종 세포주에 대한 세포배양 배지로서 10% fetal bovine serum(FBS)이 첨가된 RPMI 1640 배지를 사용하였으며 여기에 streptomycin(100 µg/mL)과 penicillin (100 U/mL)을 첨가하였다.

마우스 간암 세포와 마우스 육종 세포주 배양은 37°C, 5% CO₂ incubator에서 실시하여 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

인진쑥 추출물의 MTT 및 SRB assay에 의한 세포독성시험

인진쑥 추출물의 마우스 간암 세포와 마우스 육종 세포주에 대한 항암 효과를 알아보기 위해 Carmichael의 colorimetric MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay를 응용하여 측정하였다(1).

마우스 간암 세포와 마우스 육종 세포를 RPMI-1640배지에서 72시간 배양하여 0.25% trypsin-EDTA로 처리하여 세포를 플라스크에 수집하여 세포수를 각각 1×10⁵ cells/mL 농도로 조정하여 96 well 플레이트의 각 well에 100 µL 접종하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양한 후, 적절한 인진쑥 추출물을 농도 1, 10, 25, 50, 75, 100, 250, 500, 1000, 5000 µg/mL로 100 µL 접종하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양한 후 MTT를 이용하여 세포독성을 측정하였다.

이 때, 배양이 끝나기 4시간 전에 MTT(Sigma, USA) 시약을 phosphate buffered saline(PBS)에 5 µg/mL의 농도로 녹인 후 여과 멸균하여 제조한 MTT 용액을 10 µL씩 각각의 well에 첨가한 후 37°C, CO₂ 배양기에서 4시간 추가 배양하여 formazane 형성 반응을 시키고 나서 상층액을 제거하고 남은 자주색의 formazane침전에 PBS 완충액 50 µL와 이것을 용해시키기 위하여 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 각 well당 100 µL씩 첨가하여 반복적인 피펫팅으로 완전히 녹인 후 플레이트 교반기에서 20분간 교반하였다.

이 후, ELISA microplate 판독기를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 세포독성을 측정하였다.

이 때 측정된 흡광도는 생존하는 세포의 미토콘드리아에 함유된 탈수소 효소에 의해 MTT가 formazan으로 전환된 양을 나타내며, 생존하는 세포수와 비례한다.

흡광도 측정 시 사용한 blank에는 세포 부유액 대신 RPMI 1640 배지만을 100 µL 가하고 PBS를 50 µL 첨가하였다.

항암효과는 세포성장 저해율로 평가하였으며, 저해율이 50% 이상 일 때를 항암효과가 있는 것으로 판정하였다.

세포독성은 중복 측정한 2회 반복실험의 평균값으로 제시하였다.

$$\text{Cytotoxicity}(\%) = [1 - (T/B)] \times 100$$

T: 실험구 well의 흡광도

B: 암세포만 배양된 blank well의 흡광도

또한 인진쑥 추출물의 마우스 간암 세포와 마우스 육종 세포주에 대한 성장 억제 효과를 Skehan 등이 실시한 SRB(Sulforhodamine)방법으로 측정하였다(6).

즉, 마우스 간암 세포와 마우스 육종 세포주를 MTT 검색법에서와 같은 방법으로 배양한 다음 상층액을 제거하고 차가운 TCA(trichloroacetic acid) 100 µL를 가하여 4°C 냉장고에서 1시간 동안 방치한 후 증류수로 4-5회 세척하여 TCA를 제거하고 건조하였다.

각 well 플레이트에 1% acetic acid로 용해시킨 0.4%

SRB 용액(Sigma, USA)을 100 uL씩 첨가하여 실온에서 1시간 동안 염색하고 1% acetic acid로 4~5회 세척한 후 건조하였다.

마지막으로 각 well 플레이트에 10 mM Tris buffer 100 uL로 SRB 용액을 충분히 녹인 후 ELISA microplate 판독기로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포독성은 중복 측정된 2회 반복실험의 평균값으로 제시하였다.

결 과

인진쑥 추출물의 마우스 간암 세포주에 대한 항암효과

인진쑥 추출물의 마우스 간암 세포주에 대한 항암효과를 MTT법으로 실험한 결과, ethanol, methanol, ethyl acetate 및 물 추출물의 항암효과는 같은 종류의 추출물인 경우 농도의 증가에 따라 비례하는 경향을 나타내었다(Fig 1).

Ethanol 추출물인 경우 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도는 250 µg/mL로 85.1%를 나타내었으며, 500 µg/mL 농도에서 88.7%, 1000 µg/mL 농도에서 89.7%, 5000 µg/mL 농도에서 85.0%를 나타내었다.

Methanol 추출물인 경우 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도는 500 µg/mL로 88.8%를 나타내었으며, 1000 µg/mL 농도에서 93.6%, 5000 µg/mL 농도에서 88.0%를 나타내었고 ethyl acetate 추출물에서는 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도가 250 µg/mL로 91.2%를 나타내었으며, 500 µg/mL 농도에서 92.1%, 1000 µg/mL 농도에서 92.9%, 5000 µg/mL 농도에서 93.5%를 나타내었다.

물 추출물의 경우 5000 µg/mL 농도에서도 36.6%로 상대적으로 약한 세포독성을 나타내었다.

동일 세포주에 대한 항암효과를 SRB법으로 측정된 결과 역시 추출물 농도의 증가에 따라 항암효과가 증가하는 경향을 나타내었다(Fig 2).

Ethanol 추출물에서 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도는 250 µg/mL로 68.4%를 나타내었으며, 500 µg/mL 농도에서는 74.2%, 1000 µg/mL 농도에서는 90.8%, 5000 µg/mL 농도에서는 79.7%를 나타내었다.

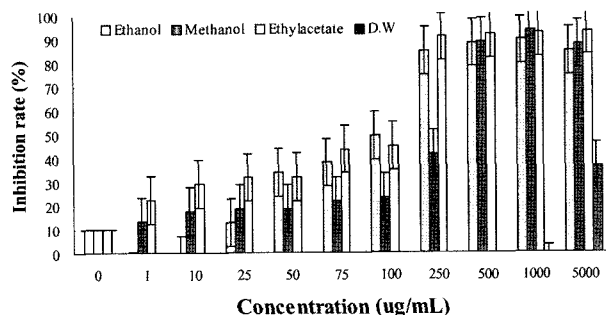


Fig 1. Cytotoxicity of the *A. capillaris* extracts against Hepa-1c1c7 cells in MTT assay.

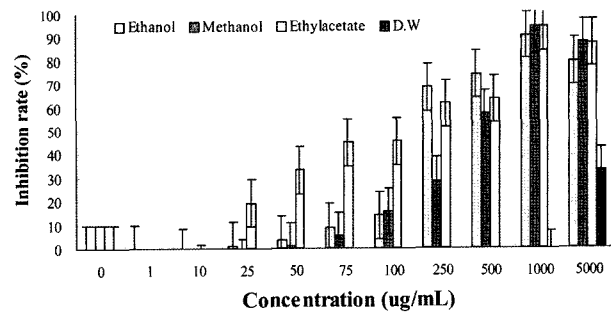


Fig 2. Cytotoxicity of the *A. capillaris* extracts against Hepa-1c1c7 cells in SRB assay.

Methanol 추출물에서는 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도가 500 µg/mL로 57.2%를 나타내었으며, 1000 µg/mL 농도에서는 94.7%, 5000 µg/mL 농도에서는 87.7%를 나타내었다.

Ethyl acetate 추출물에서 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도는 250 µg/mL로 61.6%를 나타내었으며, 500 µg/mL 농도에서 63.6%, 1000 µg/mL 농도에서 94.5%, 5000 µg/mL 농도에서는 87.3%를 나타내었으나 물 추출물에서는 세포독성이 5000 µg/mL 농도에서도 32.7%로 상대적으로 약한 세포독성을 나타내었다.

인진쑥 추출물의 마우스 육종 세포주에 대한 항암효과

인진쑥 추출물의 마우스 육종 세포주에 대한 항암효과를 MTT법으로 실험한 결과에서도 ethanol, methanol, ethyl acetate 및 물 추출물의 항암효과는 같은 종류의 추출물인 경우 농도의 증가에 따라 항암효과가 비례하는 경향을 나타내었다(Fig 3).

Ethanol 추출물에서 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도는 250 µg/mL로 52.3%를 나타내었으며, 500 µg/mL 농도에서 76.3%, 1000 µg/mL 농도에서 80.6%, 5000 µg/mL 농도에서는 77.3%를 나타내었으며 methanol 추출물에서 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도는 500 µg/mL로 77.8%, 1000 µg/mL 농도에서 80.9%, 5000 µg/mL 농도에서는 81.8%를 나타내었다.

Ethyl acetate 추출물에서 세포독성이 50% 이상 되는 최초

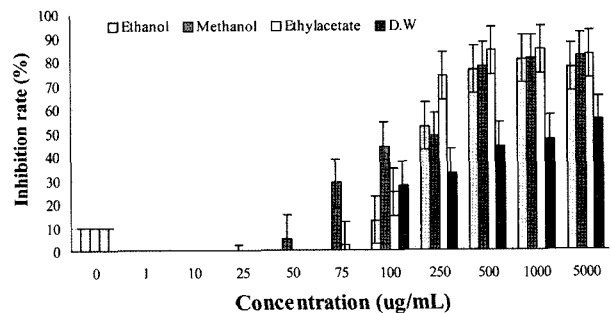


Fig 3. Cytotoxicity of the *A. capillaris* extracts against Sarcoma 180 cells in MTT assay.

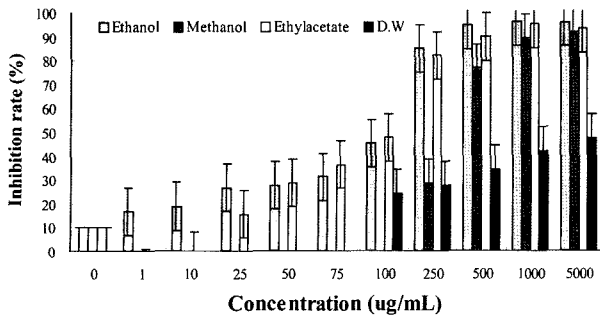


Fig 4. Cytotoxicity of the *A. capillaris* extracts against Sarcoma 180 cells in SRB assay.

농도는 250 $\mu\text{g/mL}$ 로 73.5%를 나타내었으며, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 84.3%, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 84.7%, 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 82.7%를 나타내었으나 물 추출물에서는 세포독성이 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 55.0%로 상대적으로 약한 세포독성을 나타내었다.

동일 세포주에 대한 항암효과를 SRB법으로 측정한 결과 역시 추출물 농도의 증가에 따라 항암효과가 증가하는 경향을 나타내었다(Fig 4).

Ethanol 추출물에서 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도는 250 $\mu\text{g/mL}$ 로 85.4%를 나타내었으며, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 94.9%, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 96.4%, 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 96.2%를 나타내었다.

Methanol 추출물에서는 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도가 500 $\mu\text{g/mL}$ 로 77.0%를 나타내었으며, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 89.7%, 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 92.2%를 나타내었다.

Ethyl acetate 추출물에서 세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도는 250 $\mu\text{g/mL}$ 로 82.3%를 나타내었으며, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 90.2%, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 95.4%, 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 93.6%를 나타내었으나 물 추출물에서는 세포독성이 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서도 47.8%로 상대적으로 약한 세포독성을 나타내었다.

고 찰

인진쑥 추출물의 마우스 간암 세포주에 대한 항암효과를 MTT법과 SRB법으로 실험한 결과, 인진쑥 ethanol, methanol, ethyl acetate 및 물 추출물의 마우스 간암 세포주에 대한 항암효과는 같은 종류의 추출물인 경우 추출물의 농도가 증가할수록 비례하는 양상을 나타내었다.

세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도가 인진쑥 ethanol과 ethyl acetate 추출물은 250 $\mu\text{g/mL}$, 인진쑥 methanol 추출물은 500 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 인진쑥 물 추출물은 세포독성이 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서도 32.7%~36.6%로 상대적으로 약한 세포독성을 나타내었다.

아울러, 인진쑥 ethanol, methanol, ethyl acetate 추출물들은 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 가장 강한 세포독성을 나타내었고 이 때 인진쑥 methanol, ethyl acetate, ethanol 추출물 순으

로 세포독성 효과가 강한 결과를 나타내었다. 하지만, 인진쑥 물 추출물은 세포독성 효과가 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서도 상대적으로 약한 결과를 나타내었다.

박 등(11)은 인진쑥 methanol 추출물에 의한 사람의 HepG2 간암 세포의 생존율은 시간과 농도 의존적으로 감소하고 36시간 처리 시 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 39.4%, 75 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 39.8%, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 22.8%라고 보고하였는데 농도가 증가할수록 증식 억제 효과가 증가하는 결과가 일치하였다.

Yi 등(8)은 인진쑥 butanol과 물, chloroform 추출물 역시 사람의 HepG2 간암 세포에 대한 증식 억제 효과를 나타낸다고 보고하였다.

인진쑥 추출물의 마우스 육종 세포주에 대한 항암효과를 MTT법과 SRB법으로 실험한 결과, 인진쑥 ethanol, methanol, ethyl acetate 및 물 추출물의 마우스 육종 세포주에 대한 항암효과는 같은 종류의 추출물인 경우 추출물의 농도가 증가할수록 비례하는 양상을 나타내었다.

세포독성이 50% 이상 되는 최초 농도가 인진쑥 ethanol과 ethyl acetate 추출물은 250 $\mu\text{g/mL}$, 인진쑥 methanol 추출물은 500 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 인진쑥 물 추출물은 5000 $\mu\text{g/mL}$ 로 상대적으로 약한 세포독성을 나타내었다.

아울러, 인진쑥 ethanol, ethyl acetate 추출물은 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 인진쑥 methanol, 물 추출물은 5000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 가장 강한 세포독성을 나타내었다.

함 등(19)이 인진쑥(사철쑥)과 동속인 더위지기(한인진)의 ethanol 추출물을 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 사람의 섬유 육종암 세포(HT1080), 폐암 세포(A549), 유방암 세포(MCF7)에 48시간 처리한 결과 80% 이상의 사멸 효과를 나타낸 것과 비교해서 인진쑥 추출물의 Sarcoma 180 주에 대한 증식 억제 효과가 조금 약한 결과로 생각된다.

따라서, 지금까지 보고된 인진쑥의 항암작용에 관련한 여러 연구 보고와 더불어 본 연구의 실험 결과들을 비교해서 볼 때, 인진쑥 추출 시 이용한 용매가 다소 다르고 농도의 차이가 생길 수 있으며 똑같은 종양세포 모델에 대한 연구 결과가 없어 비교하는데 어려움이 있으나 비교적 인진쑥 추출물은 마우스 간암 세포와 육종 세포에 대해 높은 암세포 성장 억제(세포독성) 효과를 나타내어 항암효과가 있는 것으로 사료된다.

전반적으로 인진쑥 추출물의 항암효과를 나타내는 성분들은 물보다는 유기용매인 methanol, ethanol, ethyl acetate 등에 잘 용출되는 것으로 사료되며 최적의 세포독성을 나타내는 농도가 추출 용매에 따른 성분 따라 일정 농도까지는 농도 의존적인 증가 경향을 나타내었지만 일정 농도 이상에서는 오히려 조금 감소되는 경향을 나타내었다.

그러므로, 앞으로 인진쑥 추출물의 항암활성 및 면역 증진을 가진 유효 성분들에 대한 동정, 생리활성 평가 및 작용기전 규명 등이 계속 연구되어야 할 것으로 생각된다.

아울러, 인진쑥 추출물의 주요한 화학적 성분(정확한 약효 성분)을 분석하고 이를 토대로 더 나아가 다른 종류의 암들

에 대한 연구와 세포 죽음 기작을 연구할 필요가 있다고 생각된다.

결 론

본 연구에서 인진쑥 추출물의 마우스 간암 세포와 마우스 육종 세포주에 대한 항암효과(암세포 증식 억제 효과)를 조사하고자 MTT법과 SRB법을 이용하여 세포독성 실험을 실시한 결과, 인진쑥 추출물은 암종 세포나 육종 세포와 같은 암세포주에 대하여 우수한 항암효과를 가지는 것으로 확인되었으며, 따라서 수의와 인의 임상에서 생약으로 개발하여 임상적으로 적용해볼 가치가 있는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Carmichael J, De Graff WG, Gazder AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 1978; 47: 943-946.
- David ID. An overview of cancer immunotherapy. *Immunol Cell Biol* 2000; 78: 179-195.
- Han SG, Lee CW, Jeon YJ, Hong ND, Yoo ID, Yang KH, Kim HM. The inhibitory effect of polysaccharides isolated from *phellinus linteus* on tumor growth and metastasis. *Immunopharmacology* 1999; 41: 157-164.
- Nagago M, Sugimura T. Carcinogenic factor in food with relevance to colon cancer development. *Mut Res* 1993; 290: 45-51.
- Oh-hashii F, Kataoka T, Tsugagoshi S. Effect of combined use of anticancer drugs with a polysaccharides preparation, Krestin, on mouse leukemia P388. *Gann* 1978; 69: 255-257.
- Skehan P, Storeng S, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Keney S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Nat Cancer Inst* 1990; 82: 1107-1112.
- Wang HX, Liu WK, Ng TB, Ooi VE, Chang ST. Immunomodulatory and antitumor activities of a polysaccharide-peptide complex from a mycelial culture of *Tricholoma sp.*, a local edible mushroom. *Life Sci* 1995; 57: 69-281.
- Yi JH, Lee JH, Woo HJ. Effects five fractions of *Artemisiae capillaris* Thunb on Fas-mediated apoptosis in HepG2 cells. *J Orient Med* 1999; 4: 41-45.
- Youlchi M, Osamu Y. Activation by protein bound polysaccharide PSK(krestin) of cytotoxic lymphocytes that act on fresh autologous tumor cells and T24 human urinary bladder transitional carcinoma cell line in patients with urinary bladder cancer. *J Urol* 1991; 145: 1082-1088.
- 구성자, 민경진, 정승희. 다나무 추출물의 항암효과에 관한 연구. *한국조리과학회지* 1999; 15: 231-237.
- 박남수. 인진쑥 메탄올 추출물에 의한 HepG2 간암세포의 Apoptosis에 관한 연구. 석사학위논문. 울산대학교 대학원. 2000: 1-23.
- 배기환, 김환목, 이상명. 녹수초의 항암활성물질의 분리 및 항암력 평가. *약학회지* 1996; 40: 225-229.
- 손홍수, 황우익. 마늘중 지용성 성분의 암세포증식 억제 효과 연구. *한국영양학회지* 1990; 23: 135-147.
- 원용진, 백우현, 우원식, 강삼식, 장일무, 김영식, 현진원, 임경화, 신진이, 성민숙, 김형자. 전통 약용식물 및 각종 식물의 항암효과에 대한 연구. *한국생약학회지* 1994; 25: 171-177.
- 유정실, 현진원, 김하원, 심미자, 김병각. 인공소화액이 영지 단백질 다당체의 항암-면역 활성화에 미치는 영향. *약학회지* 2000; 44: 347-353.
- 이준우, 백성진, 방광웅, 강신옥, 강상모, 김병용, 하익수. 목질진흠버섯 자실체와 배양 균사체 유래 β -glucan성 다당류의 생리활성. *한국식품과학회지* 2000; 32: 726-735.
- 이지영, 황우익, 임승택. 도라지(*Platycodon grandiflorum* DC) 추출 성분의 암세포 증식 억제 효과. *한국식품과학회지* 1998; 30: 13-21.
- 차승만. 항암 및 항세균 생약의 통계학적 연구. *한국생약학회지* 1977; 8: 1-15.
- 함승시, 정차권, 이재훈, 최근표, 정성원, 김은정. 더위지기 추출물의 항돌연변이원성 및 세포독성효과. *한국식품영양과학회지* 1998; 27: 157-162.
- 홍분화. 한방 처방의 통계적 연구(I) 생약의 처방 출현 빈도 및 기원 분포. *한국생약학회지* 1972; 3: 57-64.
- 황우익, 오수경. 고려인삼중 지용성 성분이 인체암 세포의 수종 효소활성에 미치는 영향. *고려인삼학회지* 1986; 10: 27-36.
- 황우익, 이성동, 오수경. 한약제의 약리작용에 관한 연구 - 항암작용에 관하여-. *한국생약학회지* 1982; 15: 205-219.