

황기에 표고버섯 균사체를 배양한 추출물이 항암효과 및 알레르기 억제효과에 미치는 영향

배만종^{1*} · 김광중² · 김수정³ · 예은주³

¹대구한의대학교 한방식품약리학과

²대구한의대학교 한의학과

³(재)경북테크노파크 대구한의대학교 한방생명자원특화센터 효능검증원

Effect of Mycelia Extracts from *Lentinus edodes* Mushroom-Cultured *Astragalus membranaceus* Bunge on Anti-cancer and Anti-allergy Activities

Man-Jong Bae^{1*}, Kwang-Joong Kim², Soo-Jung Kim³ and Eun-Ju Ye³

¹Dept. of Herbal Foodceutical Science, Daegu Haany University, Geongsan 712-715, Korea

²Dept. of Oriental Medicine, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

³Efficacy and Safety Research Center for Traditional Oriental Medicine, Daegu Haany University, Kyungbuk Technopark, Daegu 706-060, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of mycelia of *Lentinus edodes* mushroom-cultured *Astragalus membranaceus* Bunge (LAM) on proliferation of cancer cell lines (Hep3B, MCF-7 and HeLa, sarcoma 180 (S-180), and anti-allergy. In an anti-cancer test using Hep3B (hepatic cancer cell), MCF-7 (breast cancer cell) and HeLa (uterine cancer cell), LAM extract showed higher antiproliferating effect than that of *Astragalus membranaceus* Bunge (AM) extract. In an anti-cancer testing using Hep3B cells and MCF-7 cells, LAM extract showed growth-inhibitory effect of 65.23% at 3 mg/mL and 69.23% at 5 mg/mL, respectively. In an anti-cancer testing using HeLa cells, LAM extract showed growth-inhibitory effect of 42.01% at 5 mg/mL. In addition, LAM showed the tumor suppressive effect in mice injected with S-180 cells. The growth-inhibitory rates against tumor cells were 47% for LAM and 37% for AM. LAM inhibited histamine release from rat peritoneal mast cells activated by compound 48/80. These results suggest that *Lentinus edodes* mushroom-cultured herb has an antiproliferating effect against cancer cell lines (Hep3B, MCF-7 and HeLa), S-180 tumor and will be beneficial in the treatment of allergic reaction.

Key words: *Astragalus membranaceus* Bunge, anticancer activity, mycelium, sarcoma-180, antiallergy

서 론

최근 여러 종류의 버섯에서 항암효과와 혈중콜레스테롤 저하 효과 등이 있다는 것으로 알려진 이래 버섯류의 생리활성 물질에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. 표고버섯(*Lentinus edodes*)의 단백다당체가 종양에 대한 생체 고유의 방어력을 높여줌으로써 간접적으로 종양세포의 증식을 저해하거나(1) 암세포나 병원성균을 직접 사멸시키는 중요한 역할을 담당하는 대식세포의 수를 증가시키는 작용을 하는 것으로 보고되어 있다(2). 이러한 단백 다당체는 주로 균사체에 많이 존재하며 바이러스성 질병에 스스로 방어하고 인터페론과 같은 항체생성을 촉진하는 것으로 알려져 있으며(3,4) 표고버섯으로부터 분리한 lentinan이 항암 및 항암보

조제로 시판되고 있다(5). 이러한 버섯균사체의 약리효과가 항암, 콜레스테롤 저하(6), 혈당 강하(7), 항종양 작용(8) 등이 있는 것으로 입증됨으로써 균사체를 이용한 식품 또는 약제로서의 이용 가능성이 크게 대두되고 있다.

황기(*Astragalus membranaceus* Bunge)는 콩과에 속하는 다년생 초본으로 우리나라의 중북부 지역에서 자생하며, 보기제로서 민간요법으로 널리 사용되고 있다(9). 한방에서는 그 뿌리를 주로 약재로 사용하고 있으며, 보중익기, 탁독 등의 효능이 있고, 내상노년 및 모든 기쇠혈증에 치료효과가 있는 것으로 알려져 있다(10). 이에 관한 주요한 약리효능 연구로는 혈압강하작용, 강심작용, 간장보호작용, 혈당강하 작용 등이 보고되어 있다(11-14). 황기 구성성분으로는 triterpenoid glycoside계통과 flavonoid계통이 주를 이루고 있

*Corresponding author. E-mail: bamajo@dhu.ac.kr
Phone: 82-53-819-1425, Fax: 82-53-802-2490

고(15-18), 면역학적 보고에 따르면 Purmova와 Opletal(19)은 황기의 saponin이 간이나 근육에서 과산화지질형성 억제와 cholesterol 농도를 감소시켰으며 면역기능을 증가시켰다고 보고하였고, Zhao 등(20)은 방사선에 의해 억제된 T-dependent antigen에 대한 항체반응이 황기에 의해 회복되었다고 보고하였다. Kim 등(21)도 황기의 메탄올 추출물이 면역적혈구에 대한 적혈구 응집소기(hemagglutination titer) 및 용혈반 형성세포 등 생쥐의 체액성 면역기능을 증가시킨다고 보고된 바 있다.

이에 본 연구에서는 기능성 식품소재 개발하고 이의 효용가치를 극대화시킬 수 있는 방안으로 생약소재인 황기를 이용하여 한방발효균사체를 생산하여 항암, 알레르기 억제 관련 기능성을 검증하였다.

재료 및 방법

실험재료

황기는 대구광역시 약령시장의 한약 도매상에서 구입하였다. 표고균사체는 한국 농용미생물 보존센터(KACC)에서 분양받아 사용하였고, 인체 간암세포주인 Hep3B(KCLB 58064), 인체 유방암세포주 MCF-7(KCLB 30022), 인체 자궁경부암세포주인 HeLa(KCLB 10002), 생쥐 복수암세포인 sarcoma 180(KCLB 40066)는 한국세포주은행(KCLB)에서 분양받아 사용하였다. 실험동물은 6주령의 ICR 웅성 생쥐를(주)대한바이오링크로부터 구입하였고, RPMI 1640 배지, DMEM배지, FBS(fetal bovine serum)은 Gibco BRL(Grand Island, NY, USA) 제품을 사용하였다.

황기균사체 배양

분양 받은 표고균사체는 Potato Dextrose Agar(PDA, Difco Co., USA)로 계대 배양하여 4°C에서 냉장보관하며 사용하였다. 황기는 1시간을 침지하고 10분 단위로 60분까지 자연탈수시키면서 자동수분측정기(MB45, Precisa, Switzerland)로 수분을 측정하여 수분이 60% 될 때, 이것을 121°C에서 20분간 멸균하여 표고균사체를 접종하여 24°C에서 25일간 배양하면서 생육상태를 관찰하여 최적 상태의 황기균사체를 시료로 사용하였다(Fig. 1).

황기 및 황기균사체 추출물 조제

황기 및 황기균사체를 60°C에서 72시간 건조한 후 마쇄한 다음 60% 에탄올을 10배량을 가한 후 60°C에서 4시간 추출한 후 여과하였다. 60% 에탄올 추출물을 rotary vacuum evaporator로 60°C에서 감압농축한 후 동결건조하여 암세포(Hep3B, HeLa, MCF-7) 증식억제 실험에 사용하였다. 그리고 복강 비만세포 내 히스타민 함량관련 실험에는 각 시료에 10 배수를 가하고 98°C, 1시간 추출 후 여과(Advantec Japan, Toyo Roshi Kaisha, Japan, 5C, 185 mm)하고, 65°C에서 감압농축 후 ethanol을 첨가하여 1시간 방치시키고,

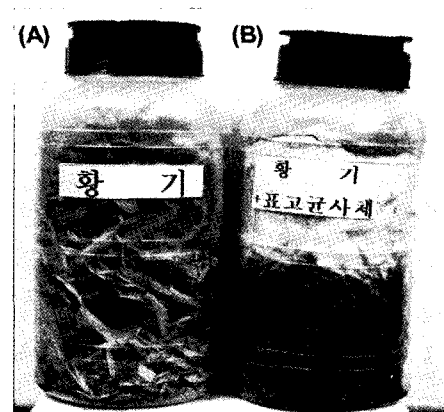


Fig. 1. Mycelia of mushroom-cultured *Astragalus membranaceus* Bunge. Mycelium was cultured at 27°C for 25 days in an incubator. A: *Astragalus membranaceus* Bunge, B: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge.

3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 하층을 얻어 증류수로 녹였으며, 다시 3,000 rpm에서 5분간 원심 분리하고 상층만 동결, 건조하여 시료로 사용하였다.

암세포 증식억제 효과

간암세포주는 10X antibiotic-antimycotic(Gibco, USA) 1%와 FBS 10% 첨가한 DMEM(high glucose) 배지를 사용하여 배양하였고, 유방암세포주, 자궁경부암세포주는 10X antibiotic-antimycotic(Gibco, USA) 1%와 FBS 10% 첨가한 RPMI 1640 배지를 사용하여 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 간암세포주 및 자궁경부암세포주는 5×10^5 cells, 유방암세포주는 1×10^6 cells를 cell culture plate(NUNC, Denmark, 60 mm)에 분주하고, 37°C, 5% CO₂ incubator (3154, Forma Scientific Inc., USA)에서 24시간 배양한 후 각 시료 추출물을 최종 농도가 1 mg/mL, 3 mg/mL, 5 mg/mL가 되도록 첨가하여 24시간 동안 다시 배양시켰다. 배양된 세포는 위상차현미경(NICON TMS, Japan) 100배율로 관찰하고, 0.4% trypan blue assay로 세포 증식 억제율을 계산하였다(22).

고형암(S-180)의 성장억제 실험

고형암 성장억제 실험은 Jo(23)의 방법을 변형하여 실시하였다. ICR 마우스는 항온항습시스템에서 1주간 적응하여 S-180 세포를 7주령 된 ICR 마우스의 복강에서 계대 배양하였다. 즉 복수암에 걸려서 복부가 팽만한 마우스의 복강 속으로 일회용 1 mL 주사기로 찔러 노란색의 복수액 1 mL를 채취한 후, 그 원액을 0.1 mL씩 ICR 마우스의 복강 속에 접종하고 배양하면서 13일마다 계대 배양하였다. ICR 마우스의 복강에 *in vivo* 계대 중인 S-180 세포를 멸균된 주사기로 채취하고 RPMI 1640 배지로 희석하여 S-180 세포의 농도가 4×10^7 cells/mL가 되게 하였다. 이와 같이 희석한 S-180 세포액을 50 μ L(2×10^6 cells)씩 ICR 마우스 우측 서

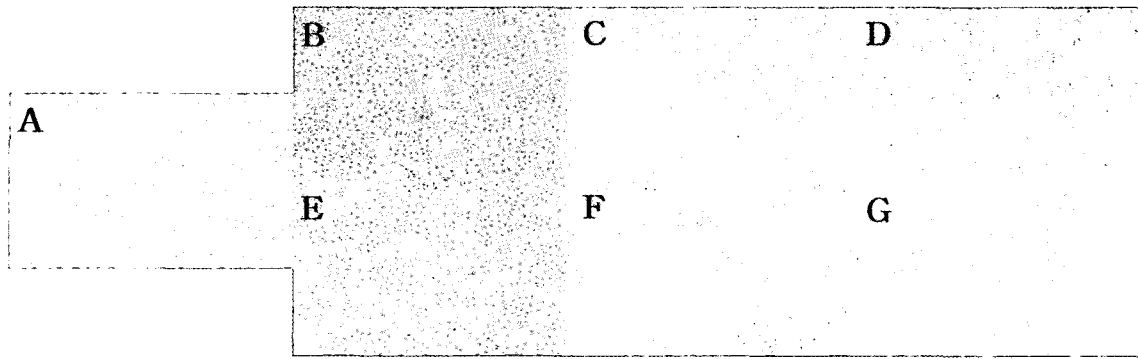


Fig. 2. Morphology of Hep3B cells treated with 60% ethanol extracts from *Astragalus membranaceus* Bunge and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge.

A: Control, B: *Astragalus membranaceus* Bunge 1 mg/mL, C: *Astragalus membranaceus* Bunge 3 mg/mL, D: *Astragalus membranaceus* Bunge 5 mg/mL, E: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge 1 mg/mL, F: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge 3 mg/mL, G: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge 5 mg/mL.

해부에 피하 이식한 후, 10% 황기 및 황기균사체분말을 자유급식하였다. 종양세포 이식 29일째 되는 날 치사시켜 생성된 고형암을 적출하고, 그 무게를 측정 후 종양 성장 저지 백분율(tumor growth inhibition ratio, I.R.: %)을 계산하였다.

복강 비만세포 내 히스타민 함량

Rat을 ether로 마취시켜 희생시킨 다음 복강에 PBS를 넣어 약 1분간 마사지한 후 복강 내의 세포를 수거하였다. 수거한 세포는 원심 분리하여 상층액을 제거한 후 PBS로 세척하여 Tyrode buffer에 현탁하여 세포수를 측정하였다. 1×10^6 개의 세포를 37°C에서 10분간 배양하고 시료를 첨가한 후 37°C에서 20분간 배양하였다. 다음 compound 48/80과 perchloric acid를 첨가하여 37°C에서 15분간 배양하였다. 반응은 4°C에서 10분간 반응을 종결시킨 다음 원심 분리하여 상층액을 수거하였다. 상층액 속에 포함된 histamine의 양은 상층액 500 μ L에 0.5 N HClO₄ 2 mL을 넣고 혼합한 후 12,000 rpm에서 20분간 원심 분리하였다. 원심분리한 상층액 2 mL에 6 N NaOH 0.2 mL, buthanol-chloroform(3:2) 3.3 mL와 NaCl을 넣고 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 원심분리한 상층액 3 mL에 n-heptane 3 mL와 0.1 N HCl 1.2 mL를 넣고 혼합하였다. 100°C에서 10분간 끓인 다음 3,000 rpm에서 5분 원심 분리하여 아래층을 수거하였다. 0.1 N HCl 1 mL와 1 N NaOH 0.3 mL, 0.2% OPT 0.2 mL 넣고 45분간 반응시킨 다음 0.5 N H₂SO₄ 0.28 mL를 넣어 반응을 종결시켰다. 형광광도 측정기(spectrofluorophotometer, Shimadzu, Japan)로 excitation 350 nm, emission 440 nm에서 측정하였다(24).

통계학적 분석

실험결과는 mean \pm SE로 나타내었고, 각 그룹간의 측정치에 대한 자료 분석은 SPSS 통계프로그램(10.0 version)을 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정하였다.

결과 및 고찰

간암세포주의 형태변화

황기와 황기균사체 추출액을 간암세포에 처리했을 때 세포의 모양의 형태변화는 Fig. 2와 같다. 각 세포는 다각형의 형태로 군집을 형성하며 자랐고 황기추출물을 1 mg/mL~5 mg/mL로 농도로 처리하였을 때, 고농도인 5 mg/mL에서 정상세포수가 약간 줄어드는 경향을 보였으나 특이적인 변화는 관찰할 수 없었다. 황기균사체를 처리했을 때는 3 mg/mL로 처리하였을 때 다각형의 정상세포의 수가 확연히 줄어들고 원형형태의 부유 세포들이 극적으로 많아지는 것이 관찰되었으며, 고농도인 5 mg/mL에서는 정상적인 세포를 찾기 힘들 만큼 많은 암세포들이 손상되어 있는 것을 볼 수가 있었다.

유방암세포주의 형태변화

황기와 황기균사체 추출액을 유방암세포에 처리했을 때 세포의 모양의 형태변화는 Fig. 3과 같다. 황기와 황기균사체 추출물을 1 mg/mL~5 mg/mL로 처리했을 때, 두 군 모두 control과 비교하여 처리 농도와 비례하여 다각형의 정상세포의 수가 줄어드는 것을 관찰할 수가 있었다. 황기균사체를 처리하였을 때가 황기를 처리했을 때보다 정상적인 세포의 수가 더 많이 줄어든 것을 볼 수가 있었다.

자궁경부암세포주의 형태변화

황기와 황기균사체 추출액을 자궁경부암세포에 처리했을 때 세포의 모양의 형태변화는 Fig. 4와 같다. 황기와 황기균사체를 1 mg/mL로 처리하였을 때에는 control과 유사하여 특이한 점이 관찰되지 않았으나, 3 mg/mL로 처리했을 때에는 두 군 모두 암세포수가 줄어들었으며, 특히 황기균사체를 처리했을 때에는 정상세포의 감소와 함께 부유세포의 수가 증가하는 것을 볼 수가 있었다. 그리고 고농도인 5 mg/mL에

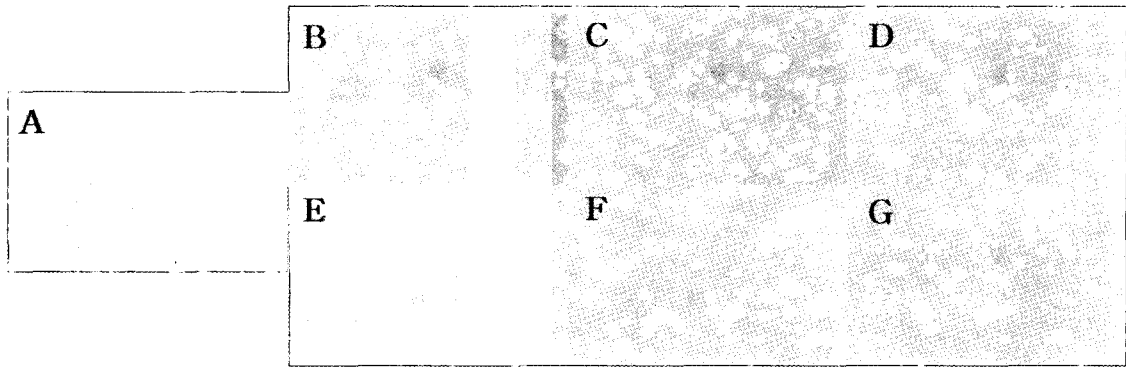


Fig. 3. Morphology of MCF-7 cells treated with 60% ethanol extracts from *Astragalus membranaceus* Bunge and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge. Samples (A~G) are the same as in Fig. 2.

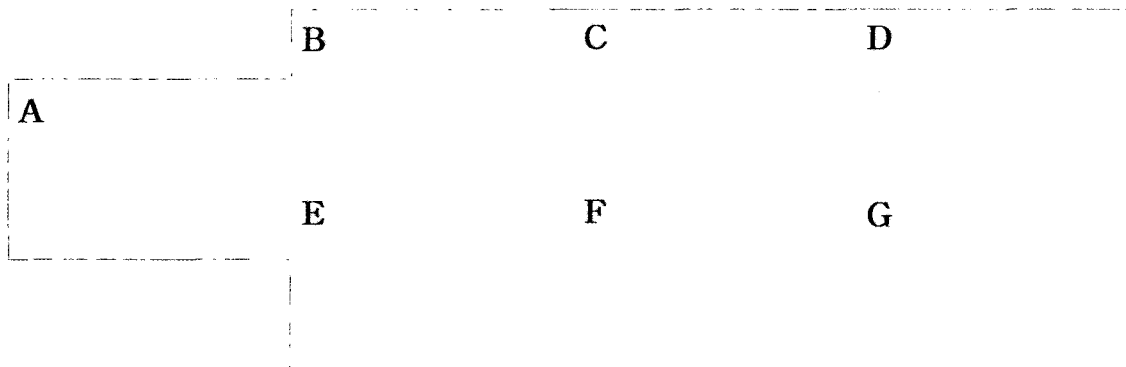


Fig. 4. Morphology of Hela cells treated with 60% ethanol extracts from *Astragalus membranaceus* Bunge and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge. Samples (A~G) are the same as in Fig. 2.

서는 황기를 처리한 군과의 비교에서도 전체 세포의 수가 확연히 줄어드는 것을 관찰할 수가 있었다.

암세포 증식억제 효과

간암 세포주에서 암세포 증식억제율은 황기는 3.12~16.35%, 황기균사체는 8.94~82.16%로 나타났다(Fig. 5). 모든 농도에서 황기균사체가 황기보다 증식억제율이 높게 나타났으며 특히, 3 mg/mL에서 57.68%, 1 mg/mL에서 65.81% 더 높은 것으로 나타났다. 유방암 세포주에서 암세포 증식억제율은 황기는 11.96~45.1%, 황기균사체는 32~69.42%로 나타났으며, 황기균사체가 황기보다 1 mg/mL에서 20.04%, 3 mg/mL에서 8.21%, 5 mg/mL에서 24.32% 더 높게 나타났다(Fig. 6). 자궁경부암 세포주에서 암세포 증식억제율은 황기는 3.61~9.35%, 황기균사체는 7.67~42.01%로 나타났으며, 황기균사체가 황기보다 3 mg/mL에서 23.82%, 5 mg/mL에서 32.66% 더 높게 나타났다(Fig. 7). 황기 및 황기균사체의 각 암세포주에 대한 증식억제율을 비교해보면, 황기는 유방암세포, 간암세포, 자궁경부암세포의 순서로 암세포 증식억제율이 높았으며, 황기균사체는 간암세포, 유방암세포, 자궁경부암세포의 순서로 나타났다. 농도에 따른 균사체 추

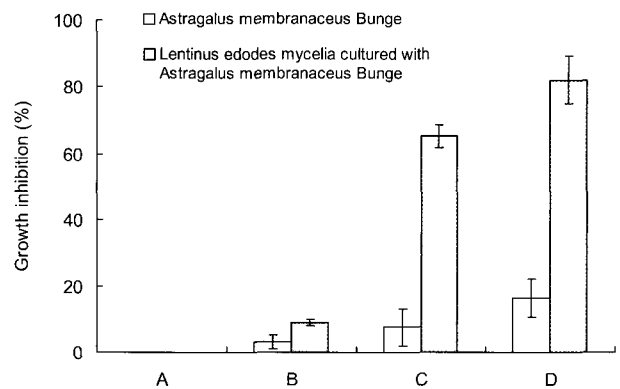


Fig. 5. Growth inhibition of Hep3B cells by 60% ethanol extracts from *Astragalus membranaceus* Bunge and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge.

A: Control, B: 1 mg/mL, C: 3 mg/mL, D: 5 mg/mL.

출물의 간암세포의 증식억제 효과는 표고버섯이 간암세포인 H22에 대해 항암효능이 있으며 버섯첨가량이 증가할수록 암세포 억제율이 증가하였다는 Park 등(25)의 보고에서와 같이 균사체 추출물의 농도가 증가할수록 간암세포 증식억제 효과가 큰 것으로 나타났다.

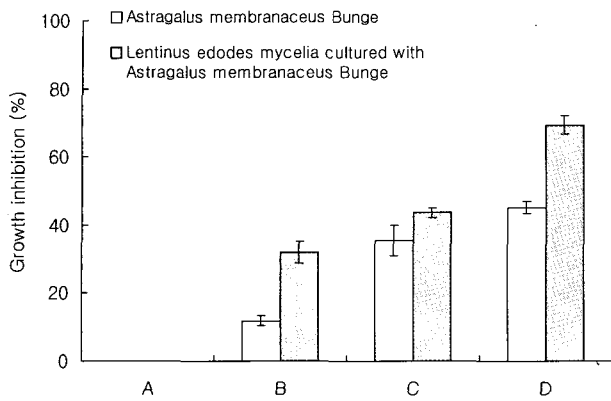


Fig. 6. Growth inhibition of MCF-7 cells by 60% ethanol extracts from *Astragalus membranaceus* Bunge and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge.

A: Control, B: 1 mg/mL, C: 3 mg/mL, D: 5 mg/mL.

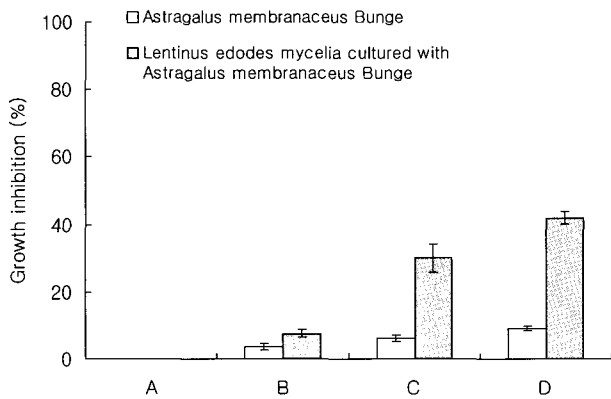


Fig. 7. Growth inhibition of Hela cells by 60% ethanol extracts from *Astragalus membranaceus* Bunge and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge.

A: Control, B: 1 mg/mL, C: 3 mg/mL, D: 5 mg/mL.

고형암 억제 효과

S-180 세포를 ICR 생쥐의 우측 서혜부에 피하 접종한지 29일이 지난 후 마우스로부터 적출한 고형암괴의 무게는 대조군에서 2.06 ± 0.16 g이었다. Table 1에 나타난 바와 같이 시료투여에 따른 고형암괴의 억제는 실험군에 따라 차이가 있어, 황기군은 암괴무게가 1.30 ± 0.93 g으로 대조군에 비해 37%, 황기균사체군은 1.08 ± 0.39 g으로 47%의 암괴 무게가 감소하는 항암효과를 보였다. 황기균사체군이 황기군에 비해 암괴 무게가 10%가 더 적은 것으로 나타났다.

복강 비만세포 내 히스타민 함량

흰쥐 복강 비만세포로부터 히스타민 유리에 미치는 황기 및 황기균사체의 영향을 알아보기 위해 compound 48/80과 황기 및 황기균사체의 추출물을 처리 후 히스타민 유리량을 측정하여 Fig. 8에 나타내었다. 히스타민은 혈관확장과 근육 수축으로 알레르기 증상을 일으키는 직접반응물질로서(26)

Table 1. Effect of *Astragalus membranaceus* Bunge and *Lentinus edodes* mushroom mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge on the growth of solid form tumor induced by sarcoma 180 ICR mice

Group ¹⁾	Tumor weight (g)	Inhibition rate (%)
A	$2.06 \pm 0.16^{2)a3)$	-
B	1.30 ± 0.69^b	37
C	1.08 ± 0.39^b	47

¹⁾A: control, B: *Astragalus membranaceus* Bunge, C: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge.

²⁾Values are means \pm SE of 6 mice.

³⁾Values with different superscripts indicate significant difference from each other ($p < 0.05$).

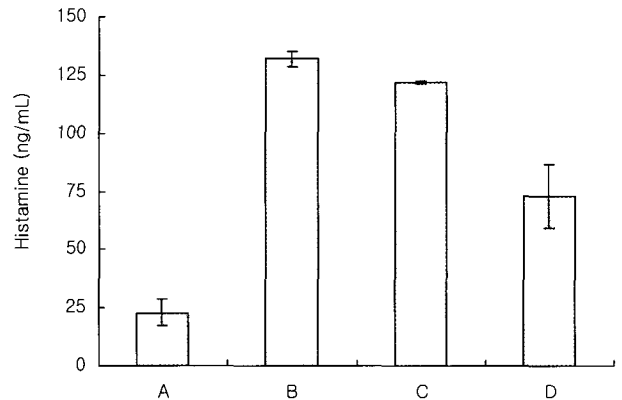


Fig. 8. Effect of extracts from *Astragalus membranaceus* Bunge and *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge on the histamine release of rat peritoneal mast cells.

A: Control, B: compound 48/80 5 μ g/mL, C: *Astragalus membranaceus* Bunge, D: *Lentinus edodes* mycelia cultured with *Astragalus membranaceus* Bunge.

비면역학적 자극물질인 compound 48/80 처리 시 유리가 촉진된다. Compound 48/80 처리 시 유리된 histamine량은 131.9 ± 3.4 ng/mL이었으며 황기추출물을 처리했을 때는 121.9 ± 0.5 ng/mL, 황기균사체 추출물을 처리했을 때는 72.8 ± 13.7 ng/mL의 히스타민이 유리되었다. Compound 48/80 처리군에 비해 황기추출물은 7.6%, 황기균사체 추출물은 44.6%의 히스타민 분비 억제효과가 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 볼 때 황기는 알레르기 억제효과가 미미하나 황기균사체는 황기가 표고버섯균사체의 발효과정을 거치면서 항히스타민 작용으로 인한 알레르기 억제효과를 가지는 성분이 부가됨으로 알레르기 억제효과가 증가된 것으로 생각된다.

요 약

황기를 이용하여 황기균사체를 접종, 배양하여 얻어진 황기균사체 추출액의 간암세포, 유방암세포, 자궁경부암세포 그리고 고형암의 증식에 미치는 영향을 조사하였다. 3가지 암세포의 형태변화 및 증식억제에 미치는 영향은 황기균사

체 추출물이 황기추출물보다 효과적인 것으로 나타났으며, 황기균사체를 간암세포에 3 mg/mL로 처리했을 때 65.23%, 유방암세포에 5 mg/mL로 처리했을 때 69.42%의 높은 암세포 증식억제 효과가 있었다. 자궁경부암세포에서는 황기균사체를 3 mg/mL로 처리했을 때 황기를 처리했을 때보다 암세포 증식억제효과가 23.82% 더 높았다. 특히 간암세포와 유방암세포에서 황기균사체 추출물을 처리하였을 때 강력한 암세포 증식억제효과가 있는 것으로 나타났다. 고형암 억제효과에서도 대조군에 비해 황기균사체 추출물이 47%의 고형암 억제효과가 있었고, 황기추출물보다 고형암 억제효과가 10% 더 높았다. 히스타민 유리 억제효과를 측정한 결과 compound 48/80 처리군에 비해 황기추출물은 7.6%, 황기균사체 추출물은 44.6%의 히스타민 분비 억제효과가 있는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 볼 때 한방기능성 소재에 균사체 배양기법의 접목으로 효능의 상승과 복합기능을 기대할 수 있겠다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역혁신센터사업(대구한의대학교 한방생명자원연구센터)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- Hamuro J, Chihara G. 1984. Lentinan, a T-cell oriented immunopotentiator. In *Modulation Agents and Their Mechanisms*. Fenichel RL, ed. Marcel Dekker, New York and Basel. Vol 19, p 409-436.
- Takehara M, Kuida K, Mori K. 1979. Antiviral activity of virus-like particles from *Lentinus edodes* (Shiitake). *Arch Virol* 59: 269-274.
- Takehara M, Mori K, Kuida K, Hanawa MA. 1981. Antitumor effect of virus-like particles from *Lentinus edodes* (Shiitake) on Ehrlich ascites carcinoma in mice. *Arch Virol* 68: 297-301.
- Tsunoda A. 1969. A mushroom extract as an interferon inducer. *Ann N Y Acad Sci* 173: 719-725.
- Fujii T, Maeda H, Suzuki F, Ishida N. 1978. Isolation and characterization of a new antitumor polysaccharide, KS-2, extracted from culture mycelia of *Lentinus edodes* L. *Antibiotics* 31: 1079-1085.
- Suzuki S, Oshima S. 1976. Influence of shiitake (*Lentinus edodes*) on human serum cholesterol. *Mushroom Sci* 9: 463-467.
- Hikino H, Kanno C, Mirin Y, Hayashi T. 1985. Isolation and hypoglycemic activity of Ganoderans A and B, glycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. *Planta Med* 51: 339-340.
- Lee JW, Chung CH, Jeong HJ, Lee KH. 1990. Anticomplementary and antitumor activities IY-105. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 18: 571-577.
- Sun T, Chang YH, Uy JQ. 1981. Effect of Fu-Zheng therapy in the management of diseases. *Chin Med J* 61: 97-101.
- Tu GS. 1988. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*. People's Medical Publishing House, Beijing. p 109-112.
- Kim YS, Park KH. 1995. Screening method for anti-hepatotoxic activity using CCl₄-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. *Kor J Pharmacogn* 26: 51-56.
- Park KH, Kim YS, Kyung JS. 1996. Screening for inhibitory effect of solvent fractions prepared from herbal drugs on CCl₄-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes and evaluation of antihepatotoxicity *in vivo*. *Yakhak Hoeji* 40: 52-58.
- Zhang YD, Wang YL, Shen JP, Li DX. 1984. Hypotensive and antiinflammatory effects of *Astragalus saponin* I. *Acta Pharm Sin* 19: 333-340.
- Zhou QJ. 1985. Chinese medicinal herbs in the treatment of viral hepatitis. In *Advances in Chinese Medicinal Materials Research*. Chang HM, Yeung HW, Tso WW, Koo A, eds. World Scientific, Singapore. p 215-224.
- Kitagawa I, Wang HK, Saito M, Yoshikawa H. 1983. saponin and saponin. XXXVI. Chemical constituents of *Astragali Radix*, the root of *Astragalus membranaceus* Bunge. 3. Astragalosides III, V and VI. *Chem Pharm Bull* 31: 716-722.
- Cui B, Inoue J, Takeshita T, Kinjo J, Nohara T. 1982. Triterpene glycosides from the seeds of *Astragalus sinicus* L. *Chem Pharm Bull* 40: 3330-3339.
- Chen MH, Liu FS. 1988. Studies on chemical constituents of *Astragalus complanatus* R. Brown II. *Acta Pharm Sin* 23: 20-218.
- Fang SD, Chen Y, Xu XY, Ye CQ, Zhai SK, Shen ML. 1982. Studies of active principles of *Astragalus mongholicus* Bunge. I. Isolation, characterization and biological effect of its polysaccharides. *Org Chem* 30: 26-32.
- Purmova J, Opletal L. 1995. Phytotherapeutic aspects of diseases of the cardiovascular system. V. Saponins and possibilities of their use in prevention and therapy. *Ceska Slov Farm (B2Q)* 44: 246-251.
- Zhao KS, Mancini C, Doria G. 1990. Enhancement of the immune response in mice by *Astragalus membranaceus* extracts. *Immunopharmacology* 20: 225-233.
- Kim JH, Park JS, Chae BS, Kang TW, Park CB, Ahn YK. 1996. Immunobiological studies on doses of methanol extract of *Astragali Radix*. *Yakhak Hoeji* 40: 326-334.
- Park EM, Kim SJ, Ye EJ, Bae MJ, Jo KC. 2005. Effect of mycelia extracts of mushroom-cultured ginseng by-product on proliferation in cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 323-329.
- Jo SG. 1995. Experimental studies on the change of cytotoxic and antitumor effects according to the prebrewed method of *Semen Tiglii* and *Rhizoma Coptidis*. *J Kor Oriental Oncology* 1: 191-211.
- Park EM, Ye EJ, Kim SJ, Kim SA, Bae MJ. 2005. Effect of beverage using herbs on the antimicrobial, anticancer and antiallergy activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 953-958.
- Park MH, Oh KY, Lee BW. 1998. Anti-cancer activity of *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*. *Korean J Food Sci Technol* 30: 702-708.
- Bae MJ, Yee ST, Chae SY, Shin SH, Kweon SH, Park MH, Song MK, Hwang SJ. 2004. The effects of arabinoxylane and the polysaccharide peptide (PSP) on the antiallergy, anticancer. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 469-474.