

## 한국산 생약으로부터 항암물질의 개발(제 10보). 인체 피부흑색종세포에 대한 포공영 추출물의 성장억제효과

한두석 · 추광문 · 김영일 · 이종섭\* · 유일수\*\* · 오인교\*\*\* · 강길웅\*\*\*\* · 백승화\*\*\*\*  
원광대학교 치과대학 구강해부학교실, \*의과대학 예방의학교실,  
\*\*\*\*자연과학대학 화학과, \*\*익산대학 화공과,  
\*\*\*원광보건대학 환경공업과

### Development of Anticancer Agents from Korean Medicinal Plants (Part 10). The Growth-inhibitory Effect of *Taraxaci Herba* Extract Against Human Skin Melanoma Cells

Du Seok Han, Kwang Moon Chu, Young Il Kim, Jong Sub Lee\*, Il Soo You\*\*,  
In Kio Oh\*\*\*, Kil Ung Kang\*\*\*\* and Seung Hwa Baek\*\*\*\*

Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, \*Department of Preventive Medicine,  
School of Medicine, \*\*\*\*Department of Chemistry, College of Natural Sciences,  
Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea. \*\*Department of Chemical  
Engineering, Iksan College, Iksan 570-110, Korea  
\*\*\*Department of Environmental Industry, Wonkwang Health College,  
Iksan 570-750, Korea  
(Received June 10, 1998)  
(Accepted September 20, 1998)

**ABSTRACT** : In the present study, we have evaluated cytotoxic effects of *Taraxaci Herba* extract on human skin melanoma cells. The light microscopic study showed morphological changes AG-NOR (argyrophylic nucleolar organizer region) by silver chloride stain, and glycoprotein by PAS reaction of the treated cells. Disruptions in cell organelles were determined by SRB assay. These results suggest that *Taraxaci Herba* retains a growth-inhibitory activity.

**Key Words** : Cytotoxic effects, *Taraxaci herba*, Human skin melanoma cells, Growth-inhibitory activity.

#### I. 서 론

포공영의 성분에 대한 연구는 1960년대부터 이루어져 Booth(1963)는 꽃에서 색소성분인 taraxacin을, Nitsche와 Pleugel(1972)은 꽃잎에서 neoxanthin과 색소인 xanthophyll을 분리하였고, Hansel(1972) 등은 줄기와 뿌리에서 sesquiterpene인 eudesmanolide, tetrahydrodridentim B, eudesmanolide- $\beta$ -D-glucopyranoside 및 germacranolide acids 등을 분리하였으며, Rauwald(1984) 등은 acylated  $\gamma$ -butyloacetone glucoside와 teraxacoside를 분리하였다. 이들 성분들에 대한 약리학적 연구는 없는 실정이며, 1990년대에 이르러서 포공영 추출물에 대한 연구가 이루어지고 있다. 천연물에서 분리하는

추출물이나 분획 및 화학요법제들의 세포독성에 대한 1차 검색에는 비색정량분석법을 다양하게 이용하고 (Alley *et al.*, 1992; Borenfreund *et al.*, 1984; Carmichael *et al.*, 1987; Mosmann *et al.*, 1983; Skehan *et al.*, 1988; Takahashi *et al.*, 1987), 최근에 Ag-NOR (argyrophylic nucleolar organizer region) 염색방법은 국내외에서 몇몇 장기질환이나 종양세포에서 Ag-NOR 수를 산정하여 세포증식에 대한 지표로 응용하고 있으며 (Egan *et al.*, 1988; Howat *et al.*, 1988; Kim, *et al.*, 1989), 암세포의 전이에 관여하는 세포의 기질단백량을 검색하기 위하여 PAS 염색방법도 이용되고 있다(정병욱 등, 1997).

본 연구는 항암성분인 terpene 성분이 함유되어 있는 포공영으로부터 물추출물을 조제하여 인체 피부흑색종세포에 적용한 후, 1차 검색방법인 비색정량분석법 중 가장 민감하고 안정적인 방법인 SRB 정량 분석법

\*\*\*\*To whom correspondence should be addressed

을 이용하여 세포의 활성을 측정하였고 Ag-NOR 염색 방법을 이용하여 Ag-NOR 수를 산정하여 세포증식에 미치는 영향을 확인하였으며, 단백질합성능을 분석하기 위하여 PAS염색을 실시하고, PAS반응 정도를 확인하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 검액조제

포공영 600 g을 2개의 3000 ml 둥근 플라스크에 1차 증류수 1500 ml과 포공영 300 g씩 넣고, 100°C에서 3시간 동안 물증탕하여 환류추출하였다. 이와 같이 3번 반복하여 얻은 추출액을 0.45 µm 필터로 여과한 후, 여과액을 50°C에서 감압농축시킨 후 동결건조하였다. 건조된 양은 약 50 g 정도 얻을 수 있었다. 추출액은 실험직전에 생리식염수로 용해시켜 사용하였다.

### 2. 세포배양

항암작용을 측정하기 위하여 서울대학교 암연구소에서 분양 받은 인체 피부흑색종세포(ATCC No, HTB-69)를 사용하였다. 인체 피부흑색종세포는 RPMI-1640에 1% fetal bovine serum과 penicillin G(25 unit/ml), streptomycin(25 µg/ml)를 첨가하여 사용하였다.

각 세포의 배양은 온도 37°C, 습도 95%, 탄산가스 농도 5%의 CO<sub>2</sub> incubator를 사용하였다. 실험을 위하여 일차 배양한 flask의 세포를 0.25% trypsin으로 처리하여, Turk형 혈구계산기를 이용하여 세포수가 2×10<sup>4</sup> cells/ml 되도록 세포부유액을 만들었다.

### 3. SRB 정량분석법

Skehan *et al.*(1988)의 방법에 따라 세포를 포공영의 물 추출물 10<sup>2</sup>~10<sup>6</sup> mg/ml 농도가 첨가된 배양액에서 48시간 배양한 후, 배양액을 버리고 5회 세척한 후, 0.4% sulforhodamine B protein(SRB)를 200 µl씩 첨가하여 1시간 동안 실온에 방치한 다음, 1% acetic acid로 5회 세척하고 완전히 건조하였다. 10 mM Tris base [tris(hydroxymethyl)aminomethane] 로 결합된 protein stain을 녹인 후, ELISA reader로 측정하여 대조군과 비교하였다.

### 4. Ag-NORs 검사

6 well plate의 각 well에 8×10<sup>4</sup> cells을 넣고, 동시에

포공영의 물추출물 10<sup>2</sup>~10<sup>6</sup> mg/ml 농도가 첨가된 배양액에서 48시간 배양한 후, 배양액을 버리고 커버글라스에 부착된 세포를 인산완충액으로 세척하였고, 10% formalin용액으로 10분간 고정한 후 증류수로 수세하고 ethanol 및 증류수에서 함수시킨 후, 1% formic acid 용액에 gelatin을 2%가 되도록 녹인 용액과 50% silver nitrate수용액의 비율이 1 : 2가 되도록 섞어 만든 콜로이드용액에 넣어 실온 암소에서 30분간 반응시킨 후 증류수로 수세하고 탈수시켰다. 염색된 커버글라스를 유리슬라이드의 정위치에 놓고, canada balsam으로 봉입한 표본을 광학현미경(BH-2, Olympus, Japan) 유침렌즈하에서 암세포에 나타난 핵중 100개를 임의로 선정하여, 개개의 세포핵 내에서 진하게 갈색으로 염색된 Ag-NOR의 수를 세어 통계처리 하였다.

### 5. PAS stain

커버글라스에 부착된 세포를 인산완충액으로 세척하였고, 10% formalin에 10분간 고정하였다. 그 후 증류수로 수세하여 periodic acid에 2분간 처리하였고, 증류수로 잘 세척해 schiff용액에서 8분간 반응시켰다. 5~10분간 흐르는 물로 수세한 다음, 핵을 구분하기 위하여 harris's hematoxylin에 2분간 대조 염색한 후, 탈수과정을 거쳐 canada balsam으로 봉입하여 광학현미경(BH-2, Olympus, Japan)적으로 관찰하였다.

### 6. 통계처리

실험결과의 통계처리는 Student's t-test에 준하였고, P-value가 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

## III. 결과 및 고찰

최근에도 암이 발생한 조직에서 Ag-NOR 수를 산정하여 암세포 증식의 지표로 이용하는 연구가 많은 데, Karasawa(1997) 등은 두개강내 악성임파종세포에서 Ag-NOR 수를 산정한 결과, Ag-NOR 수는 평균 3.46±0.25개 였다고 보고하였고, Calore(1997) 등은 자궁경부에서 Ag-NOR 수를 산정한 결과, 자궁경부암발생 부위와 정상조직사이의 Ag-NOR 수는 유의한 차이가 있다고 보고 하였으며, Agarwal과 Gupta(1997)는 편평상피암 발생부위와 만성염증부위의 Ag-NOR 수를 산정한 결과, 만성염증부위보다 암발생부위의 세포에서 Ag-NOR 수가 현저히 많았다고 보고하였다.

항암활성물질로 알려진 terpene 화합물이 함유되어

있는 것으로 알려진 포공영으로부터 물추출물을 조제하여 인체 피부흑색종세포에 적용한 후, 1차 검색방법인 비색정량분석법 중 가장 민감하고 안정적인 방법이며, 세포내 단백질 함량의 변화를 측정 할 수 있는 SRB 정량분석법을 이용하여 SRB 정량을 측정하고, 암세포증식의 지표가 되는 Ag-NOR 수를 산정하였으며, 단백질합성을 간접적으로 분석하고, PAS 염색을 실시하여 반응 정도를 관찰한 결과 Table 1~2와 Photo 1~8과 같다.

**Table 1.** The Effects of the *Taraxaci Herba* extract on the production of SRB protein on Human Skin melanoma cells

Concentration (mg/ml)	SRB quantity	
	Mean $\pm$ S. D. <sup>a</sup>	% of control
Control	2.70 $\pm$ 0.28	100.0
10 <sup>-2</sup>	1.35 $\pm$ 0.17***	50.1
10 <sup>-3</sup>	1.62 $\pm$ 0.12***	60.0
10 <sup>-4</sup>	1.72 $\pm$ 0.07***	63.7
10 <sup>-5</sup>	1.95 $\pm$ 0.28***	72.0
10 <sup>-6</sup>	2.46 $\pm$ 0.55	90.9

Cells were incubated for 48 hrs. The cells were harvested with trypsin-EDTA.

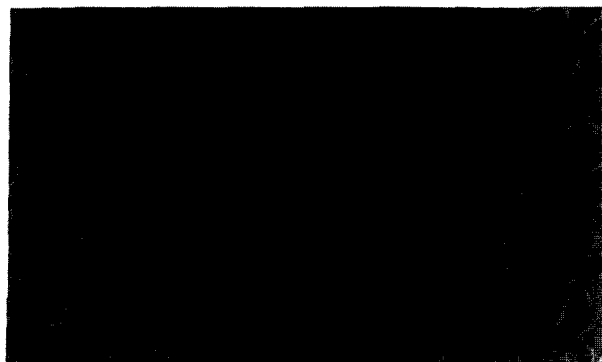
<sup>a</sup>The values represent the mean  $\pm$  standard deviations for triplicate experiments. Significantly different from the control value: \*\*\*p<0.001 (Student's t-test).

**Table 2.** Number and Distribution of Ag-NORs per Nucleus on Human Skin Melanoma Cells

Concentration (mg/ml)	Ag-NORs/Nucleus Mean $\pm$ S.D. <sup>a</sup>	Ag-NORs (%)				
		1	2	3	4	5
Control	3.54 $\pm$ 0.77	2.47	12.04	29.46	27.84	28.93
10 <sup>-2</sup>	2.02 $\pm$ 0.17**	11.58	30.38	33.59	14.17	10.28
10 <sup>-3</sup>	2.48 $\pm$ 0.31*	8.81	27.49	30.11	21.64	11.95
10 <sup>-4</sup>	2.91 $\pm$ 0.24	5.41	23.84	30.02	24.96	15.77
10 <sup>-5</sup>	3.23 $\pm$ 0.18	4.29	14.66	29.98	27.24	22.83
10 <sup>-6</sup>	3.28 $\pm$ 0.34	3.36	13.06	29.50	26.64	26.50

Cells were incubated for 48 hrs. The cells were harvested with trypsin-EDTA.

<sup>a</sup>The values represent the mean  $\pm$  standard deviations for triplicate experiments. Significantly different from the control value: \*p<0.05, \*\*p<0.01 (Student's t-test).

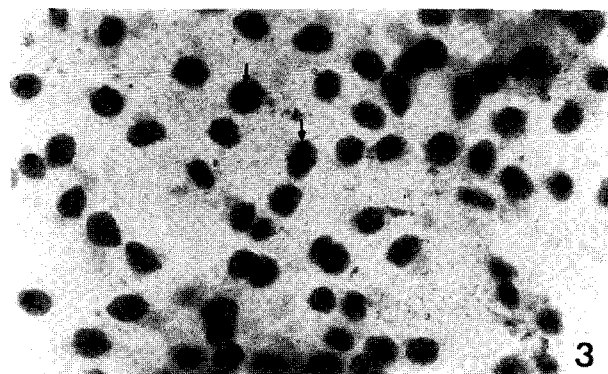


**Photo 1.** Inverted photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in unmodified medium (control) for 2 days.  $\times 400$ . Most cells had abundant cytoplasm and formed spindle shape.

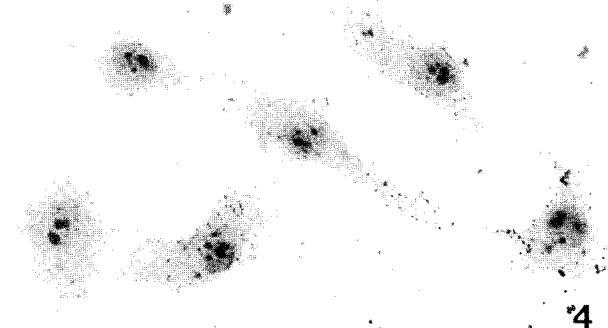
SRB 정량분석법은 핵내 단백질인 sulforhodamine B protein량을 측정하는 방법으로 암세포에 항암활성물질을 적용하면, 단백질 합성능력을 저하시키므로 Table 1에서 보는바와 같이, SRB량은 포공영 물추출물



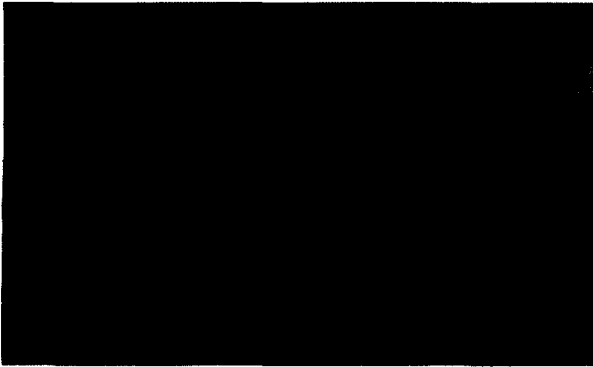
**Photo 2.** Inverted photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in the medium containing 10<sup>-3</sup> mg/ml concentration of *Taraxaci Herba* extract for 2 days.  $\times 400$ . Most cells were shown degenerative change and number of cells were decreased.



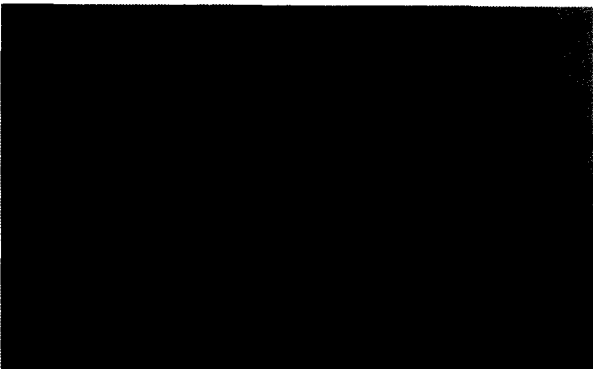
**Photo 3.** Photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in unmodified medium (control) for 2 days. silver colloids stain.  $\times 400$ . Most cells had abundant cytoplasm and nucleus were contained Ag-NORs (arrow).



**Photo 4.** Photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in the medium containing 10<sup>-3</sup> mg/ml concentration of *Taraxaci Herba* extract for 2 days. silver colloid stain.  $\times 400$ . Number of cells were decreased. also, number of Ag-NOR were decreased.



**Photo 5.** Photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in unmodified medium (control) for 2 days. PAS stain.  $\times 400$ . Most cells showed PAS positive reaction. Sometime, Some cells had crumbled PAS positive stain (arrow).

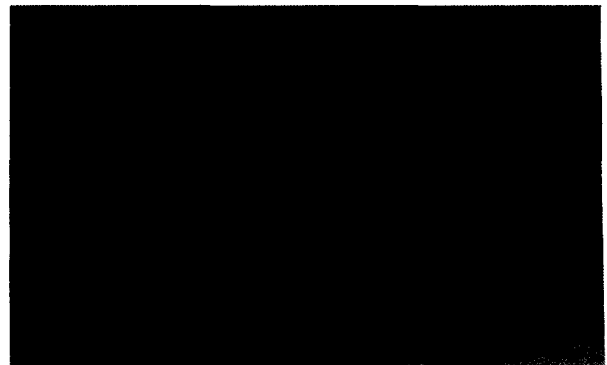


**Photo 6.** Photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in the medium cotaining  $10^3$  mg/ml concentration of *Taraxaci Herba* extracts for 2 days. PAS stain.  $\times 400$ . Most cells showed PAS negative reaction.



**Photo 7.** Photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in the medium cotaining  $10^3$  mg/ml concentration of *Taraxaci Herba* extract for 2 days. PAS stain.  $\times 400$ . Most cells were slightly recovered to PAS positive reaction.

$10^2$  mg/ml 농도에서  $10^5$  mg/ml 농도까지 통계적으로 유의하게 ( $p < 0.001$ ) 감소하였다(오인교 등, 1998).



**Photo 8.** Photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in the medium cotaining  $10^6$  mg/ml concentration of *Taraxaci Herba* extracts for 2 days. PAS stain.  $\times 400$ . Most cells were recovered to PAS positive reaction.

**Table 3.** Degree of Reaction intensity of Glycoprotein on Human Skin Melanoma Cells after PAS stain

Concentration (mg/ml)	PAS reaction
Control	+++
$10^2$	+
$10^3$	+
$10^4$	+
$10^5$	++
$10^6$	+++

Cells were incubated for 48 hrs. The cells were harvested with trypsin-EDTA.

Degree of reaction intensity, +; weak, ++; moderate +++; strong.

Ag-NOR 염색방법에 의하여 염색한 후, 즉시 핵내 Ag-NOR수를 산정하여 통계처리한 결과, 포공영 물추출물  $10^2$  mg/ml 농도와  $10^3$  mg/ml 농도에서 Ag-NOR수가 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 농도를 희석시킴에 따라 Ag-NOR수는 증가하였으나, 포공영 물추출물  $10^6$  mg/ml 농도에서도 대조군의 수보다 적었다. 핵내 Ag-NOR수의 분포비율은  $10^2$  mg/ml 농도에서 1개인 경우가 대조군에 비하여 증가한 반면, 5개인 경우는 대조군에 비하여 현저히 감소하였으며, 일반적으로 농도를 희석시킴에 따라, 1개인 경우는 감소하고, 5개인 경우는 증가하였으나,  $10^6$  mg/ml 농도에서는 대조군의 수에 미치지 못하였다(Table 2).

붉은색으로 염색되는 세포내기질 당단백의 반응정도는 다음과 같이 표시하였다. 그 기준은 세포 전반에 걸쳐 대체로 반응이 약하면 +, 반응이 중간정도면 ++, 반응이 강하면 +++로 하였다(Table 3). 포공영 물추출물  $10^2$  mg/ml 농도에서  $10^4$  mg/ml 농도까지 +반응이 나타났으며  $10^6$  mg/ml 농도에서는 대조군과 ++ 반응이 나타났다.

인체 피부흑색종세포를 24시간 배양하면, well 바닥에 뚜렷한 핵을 갖는 방추형세포들이 단층을 이루고,

48시간 배양하면 여러형태의 세포들이 층을 이루며 (Photo 1), Ag-NOR 염색과 PAS 염색을 위하여 커버글라스를 well 바닥에 넣고 배양하면, 세포의 증식 속도가 느려 48시간 배양 후 단층을 이루었다(Photo 3, 5). 포공영 물추출물을 농도별로 첨가하여 배양하면, Photo 2 ( $10^3$  mg/ml 농도)에서 보는 바와 같이 세포수는 감소하고, 세포형태는 원형으로 변형되며 세포들이 서로 응집하는 경향이었으나,  $10^5$  mg/ml 농도에서는대조군과 유사한 형태를 관찰 할 수있었다. Ag-NOR 염색에 있어서도 Photo 4 ( $10^3$  mg/ml 농도)에서 보는 바와 같이 세포수가 감소하고, 핵내 핵소체 형성부위의 수도 감소하였으나,  $10^6$  mg/ml 농도에서는 대조군과 거의 일치하였다. 당단백질량을 확인할 수 있는 PAS 염색을 실시하면, 대조군에서는 세포질내에 PAS 양성반응이 뚜렷하고 핵주위에는 더욱 뚜렷하며, 일부 세포에서는 염색액이 뭉치는 경향이 있으나(Photo 5, 화살표), 포공영 물추출물  $10^2$  mg/ml -  $10^4$  mg/ml 농도를 처리한 군(Photo 6, 7)에서는 PAS +반응이 나타나고,  $10^6$  mg/ml 농도 (Photo 8)에서는 다시 PAS +++반응이 나타났다.

본 연구에서는 포공영으로부터 조제한 물 추출물이 인체 피부흑색종세포에 나타내는 항암 활성 기전을 밝히기 위하여, 단백질 합성에 직접 관여하는 핵소체 형성부위(Ag-NORs)와 암세포의 부착능과 전이작용에 간접적으로 관여하는 것으로 알려진 당단백질을 측정하기 위하여 PAS 염색을 실시하였다. 본 실험의 결과는 포공영으로부터 조제한 물추출물을 희석하여, 농도별로 인체 피부흑색종세포에 적용한 결과, 농도가 증가할수록 핵당 Ag-NOR 수는 대조군에 비하여 감소하였고, Ag-NOR 수의 분포 비율은 농도가 1개인 경우는 증가하고, 4와 5개인 경우는 감소하여 포공영 추출물에는 핵소체 형성부위 형성을 억제하는 물질이 함유되어 있는 것으로 추측할 수 있으며, Ag-NOR 수의 감소는 SRB량의 감소를 일으켰을 것으로 추측 할 수 있다. 한편 당단백은 대표적인 세포의 기질 단백질 fibronectin의 구성성분이고 세포 내 fibronectin의 생성의 증가는 세포외로의 분비를 증가시킬 것이며, 세포외로 분비된 fibronectin은 암세포의 부착능과 전이능력을 증가시킨다(Nakamura, *et al.*, 1991). 이와 같은 기전을 염두에 두고 PAS 염색을 실시한 결과, 대조군의 인체 피부흑색종세포 내에서는 PAS 양성반응이 강하게 나타나고, 포공영의 물추출물의 진한 농도인  $10^2$  mg/ml 농도에서  $10^4$  mg/ml 농도까지는 PAS +반응이 나타나며  $10^5$  mg/ml 농도에서부터는 다시 PAS ++반응이 나타났다. 포공영의 물추출물에는 Ag-NOR 수를 감소시키는 물질

이 함유되어 있으므로, Ag-NOR 수의 감소는 당단백질량의 감소와 관련이 있을 것으로 추측되므로, PAS 음성반응을 나타내는 인체 피부흑색종세포는 부착능과 전이능력이 감소될 것으로 추측된다. Terpene 성분을 함유하고 있는 포공영으로부터 물추출물을 조제하여, 인체 피부흑색종세포에 적용한 본 연구에서도 SRB 정량분석법에서 각각  $10^2$  mg/ml 농도에서  $10^5$  mg/ml 농도까지 통계적으로 유의( $P < 0.001$ )한 성장억제효과가 나타나 앞으로 항암활성이 있는 물질을 개발하기 위한 천연물로 지정하고, 앞으로 세포의 부착능과 전이에 직접적인 관련이 있는 세포외 기질 단백질인 fibronectin, laminin 및 actin 등의 분석에도 중점을 두어 연구를 계속할 계획이다.

#### IV. 결 론

천연물로부터 독성에 의한 부작용이 적고 항암활성이 강한 물질을 개발할 목적으로, terpene 성분을 함유하고 있는 것으로 알려진 포공영으로부터 물추출물을 조제하여, 인체 피부흑색종세포에 적용한 후, 일차검색에 이용되는 비색법중 가장 민감하고 안정적인 SRB 정량분석법을 이용하여 암세포에 대한 성장억제효과를 측정하였고, 세포증식의 지표가 되는 Ag-NOR 염색 방법을 이용하여 Ag-NOR 수를 산정하였으며, 당단백질량을 간접적으로 알아보기 위하여 PAS 염색을 실시하여 PAS 반응정도를 확인하였다.

1. 포공영 물추출물  $10^2$  mg/ml 농도에서  $10^5$  mg/ml 농도까지는 SRB량을 대조군에 비하여 통계적으로 유의( $p < 0.001$ )하게 감소시켰다.
  2. 포공영 물추출물  $10^2$  mg/ml 농도와  $10^3$  mg/ml 농도에서는 Ag-NOR 수를 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소시키고, Ag-NOR 분포 비율을 좌방이동시켰다.
  3. 포공영 물추출물  $10^2$  mg/ml -  $10^4$  mg/ml 농도는 인체 피부흑색종세포의 세포질내 PAS 반응은 +반응으로 변화시켰다.
- 이상의 결과는 포공영 물추출물에는 인체 피부흑색종세포에 대한 성장억제물질을 함유 하고 있음을 알 수 있었다.

#### 감사의 글

이 연구는 원광대학교 교비와 한국과학재단, 전라북도청후원, 의약자원연구센터의 연구지원(98-16-01-04-A-3)에 의해 이루어졌으며, 이에 깊이 감사드립니다.

## 참고문헌

- Alley, M.S., Kim, S.G., Eun, J.S., Lim, J.P., Yum, J.Y., Suh, E.S., Oh, C.H. and So, J.N. (1992): Studies on the combined effect of several combined preparation of crude drugs and mitomycin C (I). *Kor. J. Pharmacogn.*, **23**, 158-170.
- Agarwal, J. and Gupta, J.K. (1997): Nucleolar organizer regions in neoplastic and non-neoplastic epithelium of the cervix. *Indian J. Pathol. Microbiol.*, **40**, 125-127.
- Booth, V.H. (1964): Taraxien, the carotenoid ester in dandelion flowers. *Phytochemistry*, **3**, 229-234.
- Borenfreund, E. and Puerner, J.A. (1984): A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays (HTD/Nr-90). *J. Tissue Culture Meth.*, **9**, 7-9.
- Carmichael, J., Degraff, W.G., Gazdar, A.F., Minna, J.D. and Mitchell, J.B. (1987): Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, **47**, 936-942.
- Calore, E.E., Shirath, N.K., Shih, L.W., Cavaliere, M.J. and Siqueira, M. (1997): Silver staining method for nucleolar organizer regions in cervical smears. *Diagn. Cytopathol.*, **16**, 497-499.
- Egan, M.J. and Crocker, J. (1988): Nucleolar organizer regions in cutaneous tumors. *J. Pathol.*, **154**, 247-253.
- Howat, A.J., Giri, D.D. and Wright, A.L. (1988): Silver-stained nucleoli and nucleolar organizer region counts are of no prognostic value in thick cutaneous malignant melanoma. *J. Pathol.*, **156**, 227-232.
- Hansel, R., Kartarahardja, M., Huang, J. T. and Bohlmann, F. (1980): Sesquiterpenlacton- $\beta$ -D-Glucopyranoside sowie ein neues eudesmanolid aus taraxacum officinale. *Phytochemistry*, **19**, 857-861.
- Karasawa, K., Tada, T., Kanai, H., Takagi, T. and Yamada, K. (1997): Nucleolar organizing regions in primary intracranial malignant lymphomas. *J. Neurooncol.*, **35**, 1-6.
- Kim, J.M., Kim, I.S. and Paik, S.Y. (1989): Nucleolar organizer regions in normal tissue and hyperplastic and neoplastic lesions. *Kor. J. Pathol.*, **23**, 208-222.
- Mosmann, T. (1983): Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.*, **65**, 55-63.
- Nitsche, H. and Pleugel, C. (1972): Neoxanthin from helianthus, taraxacum and impatiens. *Phytochemistry*, **11**, 3383-3385.
- Nakamura, M., Mishima, H., Nishida, T. and Otori, T. (1991): Requirement of microtubule assembly for initiation of EGF-stimulated corneal epithelial migration. *Jpn. J. Ophthalmol.*, **35**, 377-385.
- Rauwald, H.W. and Huang, J.T. (1985): Taraxacoside, a type of acylated  $\lambda$ -butyrolactone glycoside from taraxacum officinale. *Phytochemistry*, **24**, 1557-1559.
- Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Visteca, D., Warren, J.T., Bokesch, H., Kenney, S. and Boyd, M.R. (1988): New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Nat. Cancer Inst.*, **82**, 107-1112.
- Takahashi, K., Fujita, Y., Mayumi, T., Hama, T. and Kishi, T. (1987): Effect of adriamycin cultured mouse embryo myocardial cells. *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 326-334.
- 이은방, 김정근, 김옥경 (1993): 포공영의 항위염 작용, 생약학회지, **24**, 313-318.
- 정병욱, 김주영, 이윤창 (1997): 암세포주의 세포외기질단백에 미치는 Nocodazole의 영향, 대한 해부학회지, **30**, 521-532.
- 오인교, 유은아, 한두석, 강길웅, 백승화 (1998): 한국산 생약으로부터 항암물질의 개발(제 8보). 포공령 추출물이 인체 피부흑색종세포에 미치는 세포독성작용. **29**, 198-203. 한국생약학회지.