

## 큰비쭉(*Artemisia fukudo*) 추출물의 암세포 증식 억제효과

김길남 · 이정아 · 윤원종 · 김지영 · 송관필 · 박수영<sup>†</sup>

(재)제주하이테크산업진흥원 제주생물종다양성연구소

### The Cytotoxicity of *Artemisia fukudo* Extracts Against HL-60 Cells

Kil-Nam Kim, Jung-A Lee, Weon-Jong Yoon, Ji-Young Kim, Gwan-Pil Song and Soo-Yeong Park<sup>†</sup>

Jeju Biodiversity Research Institute, Jeju Hi-Tech Industry Development Institute, Jeju 690-121, Korea

#### Abstract

The present study describes the cytotoxic effect of *Artemisia fukudo* extracts. The extract from *A. fukudo* by 80% ethanol was fractionated with *n*-hexane, dichloromethane, ethylacetate, and butanol in serial. The cytotoxicity of *A. fukudo* extracts was examined for its effect on the growth of HL-60 cells by the colorimetric 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. In addition, we used the HL-60 cells to see what effects the *A. fukudo* extracts will have on apoptosis of cancer cells. We checked the cell activity, cell morphologic changes, DNA fragmentation, and DNA content after 24 hr incubation with administering 25 µg/mL of the *A. fukudo* extracts. In the treatment of the low concentration of *n*-hexane and dichloromethane fractions, the survival rate of HL-60 cells is lower than that of the control. The laddering-pattern DNA fragmentation was observed in the treatment with *n*-hexane and dichloromethane fractions. The DNA content of the cells apoptosis measured as the density of sub-G<sub>1</sub> hypodiploid cells by flow cytometric analysis. The number of sub-G<sub>1</sub> hypodiploid cells increased in the treatment with *n*-hexane and dichloromethane fractions. These fractions obstructed the cell cohesion and caused the blebbing of the cell membrane and fragmentation of the nucleus, both of which are symptoms of apoptosis. These results suggest that *A. fukudo* has a great potential value as food additives, medicinal supplements for patients with chronic diseases, and preventive measures against cancer.

**Key words:** *Artemisia fukudo*, HL-60 cells, cytotoxicity, apoptosis

#### 서 론

최근 암 발생률은 산업의 급격한 발달, 지구 생태계 및 식생활의 변화 등으로 과거에 비해 급격히 증가하고 있으나, 아직도 암의 발생기전이 불명확하여 난치성 질병으로 알려져 있다. 현재 사용되고 있는 항암제들은 효소제제나 백신 등의 생물학적 제제, 순수합성 의약품 및 천연물 유래의 의약품 등으로 크게 구분할 수 있는데, 이 중 유전자, 효소 및 백신 등을 이용한 항암제는 실용단계에 있는 상태는 아니며 화학요법에 의해 개발된 많은 항암제는 암의 종류에 따라 약리작용이 다양하고, 독성에 의한 부작용이 다양하게 나타났기 때문에 암 치료 시 문제점으로 지적되고 있다(1,2). 또한 항암제는 암세포의 성장을 효과적으로 억제하기도 하지만, 때로는 정상 세포에 대해서 독성을 나타내기도 한다. 따라서 많은 학자들은 이 같은 독성의 작용기전을 밝히기 위하여 많은 연구를 수행하고 있으며(3-5), 근래에는 세포 배양 기술이 급격히 발달함에 따라 각종 세포를 배양한 후, 여러 독성물질을 투여함으로써 이들의 세포독성에 대한 기전을

세포 수준에서 규명하려는 연구도 활발히 진행되고 있으며, 항암제의 부작용을 최소화하고 치료효과를 높이기 위하여 생약 및 천연물을 이용한 항암제의 개발이 지속적으로 시도되고 있다(6). 이와 같이 암발생 연구에 있어 예방 및 치료제를 개발하기 위해 최근 인간이 섭취하는 식품이나 식물체로부터 생리활성 기능을 나타내는 물질을 분리해 내고, 이를 활용한 각종 질병의 예방이나 치료를 위한 식·의약품 연구가 활발히 진행되고 있다(7-12).

식품으로서 흔히 사용하고, 민간요법이나 차 음료로서도 응용되고 있는 쑥(*Artemisia princeps* var. *orientalis*)은 우리 생활 주변에서 흔히 볼 수 있으며 우리나라 전국 각지에서 자생하는 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본으로 세계 각지에 약 350여 종이 분포하며 우리나라에는 약 20여 종이 자생하고 있는 것으로 알려져 있다. 쑥의 구성 성분은 생물학적으로나 화학적으로 다양하며 단백질, 지질, 당질, 비타민 A, B, C, D, 칼슘 등이 함유되어 있어 전통 의학에 피부병, 위장병, 알레르기, 감기, 복통 등 거의 쓰이지 않는 곳이 없을 정도로 빈번하게 사용되고 있고 풍부한 식물이어

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: user111@jejuhidi.or.kr  
Phone: 82-64-720-2322, Fax: 82-64-720-2301

서 관심이 증가되고 있다. 이 식물에서 보고된 생물학적으로 활성을 띠는 다양한 화합물들은 sesquiterpenes, flavonoids, coumarins, isoprenyl coumaric acid 유도체, caffeoylquinic acids, acetylenes, sterols, phenoxychromene, anacetopnone glucoside, phenylpropene, methyl jasmonate와  $\alpha$ -tocopherol 등이 보고되고 있다(13). 쑥의 항암성에 관한 연구로는 Kim 등(14)과 대만의 Lee와 Lin(15)이 각각 쑥(*A. asiatica* Nakai)과 참쑥(*A. lavandulaefolia* D.C)을 이용하여 항돌연변이 효과를 보았고, Hwang 등(16)은 쑥(*A. princeps* Pampan)의 추출 성분을 이용하여 암세포증식 억제효과를 확인하였다. 그리고 Xu 등(17)은 쑥(*A. capillaris*)의 수용성 추출물이 종양괴사인자를 활성화시키는 효과를 가진다고 보고하였고, 그 외에 쑥의 페놀성 화합물의 항암활성도 보고된 바 있다(18).

본 연구에서는 쑥속 식물중 바닷가에 주로 서식하는 큰비쑥(*Artemisia fukudo*; 갯쑥)을 대상으로 그 유효성분이 항암제 개발의 기초자료로 사용될 수 있는지 탐색하고, 식품산업에서 항암효과를 가진 기능성 식품으로의 가능성을 밝히고자 극성에 따라 순차적으로 용매 분획하여 각 분획물의 일정량을 혈액암 세포주인 HL-60 세포에 첨가함으로써 암세포증식억제(cytotoxicity) 효과와 이러한 인체 암세포주에 미치는 각 용매 분획별 성분들의 생리활성이 세포자연사(apoptosis)에 의한 것인지 몇 가지 apoptosis 유도 실험을 통해 확인해 보았다.

## 재료 및 방법

### 재료

제주도 해안가 일대에 자생하고 있는 큰비쑥(*Artemisia fukudo*)을 2006년 9월경에 채집하여 대한식물도감(19)을 참고하여 동정하였으며, 채집된 시료는 증류수로 2~3회 수세한 뒤 물기를 제거하여 2주간 음건한 후 마쇄기로 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.

### 용매 계통 분획

큰비쑥의 에탄올 추출물 및 순차적 분획물의 제조는 80% 에탄올(EtOH) 및 분획용 헥산(*n*-hexane), 디클로로메탄( $CH_2Cl_2$ ), 에틸아세테이트(EtOAc) 그리고 부탄올(BuOH)을 사용하여 용매의 극성을 이용한 순차적 추출법을 사용하였다. 즉 분말 건조된 시료에 80% 에탄올로 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하여 동결건조기로 완전 건조시켰다. 상기의 과정을 3회 반복 추출하여 에탄올 추출물을 얻은 뒤, 건조된 에탄올 추출물에 10배량의 증류수와 동량의 헥산을 첨가하여 분획한 후 감압 농축하여 헥산 분획물을 얻었다. 동일한 방법으로 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올 그리고 물 층을 분획하여 각각의 순차 분획물을 얻었으며, 모든 과정은 3회 반복 실시하였다.

### 세포배양

급성 전골수성 백혈병 환자에서 유래한 HL-60 세포주를 한국세포주은행(KCLB)으로부터 분양 받아 100 units/mL의 penicillin-streptomycin(GIBCO; Grand Island, NY, USA)과 10%의 fetal bovine serum(FBS; GIBCO, Grand Island)이 함유된 RPMI 1640 배지(GIBCO; Grand Island)를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 항온기에서 배양하였으며, 계대 배양은 3~4일에 한 번씩 시행하였다.

### 암세포 증식 억제효과(cytotoxicity) 측정

각 용매별 큰비쑥 추출물 및 순차적 분획물의 HL-60 세포에 대한 증식 억제효과는 MTT assay법(20)을 이용하여 알아보았다. HL-60 세포( $5.0 \times 10^4$ /mL)를 96 well plate의 각 well에 넣고, 시료를 농도별로 첨가하였다. 이를 3일간 배양한 다음, 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT; Sigma, St. Louis, MO, USA) 100  $\mu$ g을 첨가하고 4시간 동안 더 배양하였다. Plate를 1,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 조심스럽게 배지를 제거한 다음, dimethylsulfoxide(DMSO; Sigma) 150  $\mu$ L를 가하여 MTT의 환원에 의해 생성된 formazan 침전물을 용해시킨 후 microplate reader(Bio-TEK instrumenis, Inc., Winooski Vermont, WI, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료군에 대한 평균 흡광도 값을 구하였으며, 대조군의 흡광도 값과 비교하여 세포 증식억제 정도를 조사하였다.

### DNA 단편화 현상 측정(analysis for DNA fragmentation)

HL-60 세포( $3.5 \times 10^5$ /mL)에 시료를 처리하여 배양이 끝난 후 세포를 수집하여 Promega Wizard<sup>®</sup> Genomic DNA Purification kit(Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 DNA를 분리하였다. 분리한 DNA를 1.0% agarose gel에서 20분(100 V) 동안 전기영동을 한 다음 ethidium bromide로 염색하고 UV transilluminator 하에서 DNA 단편화 현상을 관찰하였다.

### 세포주기 분석(cell cycle analysis)

HL-60 세포( $3.5 \times 10^5$ /mL)에 시료 농도를 25  $\mu$ g/mL로 처리하여 24시간 배양한 후, HL-60 세포를 수확하여 PBS로 세척하였다. HL-60 세포를 4°C에서 70% 에탄올로 30분 동안 고정시킨 후, PBS로 세척하고, RNase A를 처리한 다음 propidium iodide(PI; Sigma)로 염색하고, BD FACSCalibur<sup>™</sup> Flow Cytometer(BD Biosciences, San Jose, CA, USA)로 세포주기를 분석하였다.

### 핵의 형태학적 변화(morphological changes) 측정

세포자살의 형태학적 특징 중의 하나인 핵의 변화를 관찰하기 위해 HL-60 세포( $3.5 \times 10^5$ /mL)에 시료를 처리하여 배양이 끝나기 30분 전에 DNA 특이적으로 결합하는 생체

형광 염색액인 Hoechst 33342(Sigma Chemical Co.)를 사용하여 DNA를 염색하고 형광현미경으로 관찰하였다.

통계분석

실험결과는 SAS program(statistical analysis system)을 이용하여 분석하였고, 평균치와 표준편차로 나타냈다. 그룹 간의 유의적인 통계치를 분석하기 위하여 p<0.05의 유의 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

에탄올 추출물 및 순차분획물의 수율

큰비쭉 시료(1.2 kg)를 80% 에탄올로 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하여 조추출물 219 g을 얻었다. 그리고 여기서 얻어진 에탄올 추출물(100 g)을 10배량의 증류수로 현탁시킨 후에 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 그리고 부탄올 등으로 순차적으로 분획하여 헥산 층에서 9.01 g, 디클로로메탄 층에서 12.46 g, 에틸아세테이트 층에서 13.39 g, 부탄올 층에서 22.91 g 및 잔사인 물 층에서 33.05 g의 분획물을 얻었다. 각 순차적 분획물의 수율은 Table 1에 나타내었으며, 추출에 사용한 큰비쭉 에탄올 추출물의 수율은 약 18.25%이었다. 에탄올 추출물에 대한 각 순차분획물 중 헥산 분획물 수율이 9.01%로 가장 낮았고, 수용성 분획물이 33.05%로 가장 높은 수율을 보였다.

암세포 증식 억제효과

에탄올 추출물 및 순차적 용매분획물의 HL-60 세포의 성장에 대한 세포증식 억제효과는 tetrazolium salt의 하나인

Table 1. Yield of each fractions extracted from *Artemisia fukudo*

Solvent	Yield (%w/w) <sup>1)</sup>
80% EtOH extract	18.25
n-Hexane fraction	9.01
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> fraction	12.46
EtOAc fraction	13.39
BuOH fraction	22.91
Water fraction	33.05

<sup>1)</sup>Yield (%)=solid extract or fraction (g)/raw material (dry weight)×100.

Table 2. Cytotoxic effect of *Artemisia fukudo* extracts on HL-60 cells

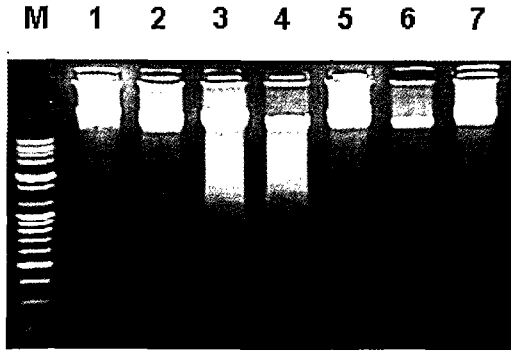
Treatment (µg/mL)	Growth inhibition (%)				IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	25	50	100	200	
80% EtOH	24.16±2.63*	36.10±1.98**	47.65±1.70**	55.37±5.41**	108.69
n-Hexane	72.32±5.58**	82.92±1.29**	88.08±0.24**	85.26±0.18**	13.53
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	64.54±1.79**	81.15±0.23**	87.66±0.94**	85.59±0.06**	17.01
EtOAc	39.34±3.29**	54.29±1.74**	67.25±5.80**	70.20±1.43**	41.93
BuOH	25.30±2.51*	33.66±4.92**	43.75±5.69**	59.84±4.51**	127.68
Water	4.87±2.88	6.99±2.48	24.93±4.15*	39.39±4.10**	>200

The data represent the mean±SD of triplicate experiments. Significantly different from negative control; \*p<0.05, \*\*p<0.01.

MTT를 사용하여 MTT의 환원에 의해 생성되는 formazan의 흡광도로 측정하였다. 그 결과 큰비쭉 80% 에탄올 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 108.69 µg/mL를 보였으며, 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 및 부탄올 분획물은 각각 13.53 µg/mL, 17.01 µg/mL, 41.93 µg/mL 및 127.68 µg/mL의 IC<sub>50</sub> 값을 나타냈다. 그러나 잔사인 수용성 분획물인 경우는 본 연구에 사용된 농도 범위에서는 IC<sub>50</sub> 값을 구할 수가 없었으며, 전반적으로 모든 처리구에서 농도의존적인 세포증식 억제효과가 나타났다. 한편 본 연구에 사용된 초기농도인 25 µg/mL에서부터 세포증식 억제율이 50% 이상을 보인 처리구는 헥산과 디클로로메탄 분획물이었으며, 농도 의존적으로 세포성장 억제효과가 더 좋았던 분획물은 디클로로메탄 분획물이었다. 디클로로메탄 분획물을 여러 농도로 처리하였을 때의 세포성장 억제율은 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL 및 200 µg/mL 농도에서 각각 64.54%, 79.15%, 87.66% 및 86.59%로 유의적인 세포성장 억제효과를 보였다(Table 2). Hwang 등(16)도 아세톤에 의해 분획된 썩(A. princeps Pampan)의 유효성분이 생쥐 유래의 백혈병 임파모세포인 L1210과 인체의 결장암세포인 HCT-48, 인체 간암세포인 Hep G2에 대해서 현저히 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었다고 보고하였다. 또한 Lee 등(21)은 사철쭉(A. capillaris Thunb.) 에탄올 추출물이 증류수 추출물보다 사람 폐암세포주인 A549에 대해서 높은 세포성장 억제효과를 보인다고 보고하였다.

DNA 단편화 현상

큰비쭉 용매분획물의 세포독성효과에 의한 HL-60 세포에서의 세포증식 억제작용이 apoptosis 유도에 의한 것인지 그 기전을 알아보기 위하여, apoptosis 유도에 의하여 나타나는 DNA 단편화 현상을 전기영동을 통해 확인하였다. 에탄올 추출물 및 순차적 용매분획물의 농도를 25 µg/mL로 하여 관찰한 결과 헥산 및 디클로로메탄 분획물에서 HL-60 세포에 대한 DNA 단편화 현상이 가장 두드러지게 나타났다(Fig. 1). 이와 같은 결과는 Hu 등(22)이 발표한 사철쭉 수용성 추출물이 사람 간암 세포주인 SMMC-7721에 대하여 세포자연사의 전형적인 DNA 단편화 현상을 보인다는 보고와 일치한다. 이는 큰비쭉 또한 HL-60 세포를 apoptosis에 의해 세포사멸을 일으키는 것으로 생각된다.



**Fig. 1.** DNA fragmentation by *Artemisia fukudo* extracts in HL-60 cells.

HL-60 cells ( $3.5 \times 10^5$ /mL) were treated with the *A. fukudo* extracts (25  $\mu$ g/mL) for a 24 hr. The DNA was isolated and subjected to 1.0% agarose gel electrophoresis for staining with ethidium bromide. Lane M: DNA maker, Lane 1: Control, Lane 2: 80% EtOH ext., Lane 3: *n*-Hexane fr., Lane 4:  $CH_2Cl_2$  fr., Lane 5: EtOAc fr., Lane 6: BuOH fr., Lane 6: Water.

**세포주기 분석**

각 용매별 큰비속 추출물 및 순차적 분획물의 apoptosis 유도에 의하여 sub-G<sub>1</sub> hypodiploid 세포가 증가하는지 알아 보았다. 즉 DNA에 결합하여 형광을 나타내는 물질인 propidium iodide로 염색한 후 유동세포분석기(Flow Cytometry)를 이용하여 세포내 DNA 함량을 sub-G<sub>1</sub> peak 구간을 환산하여 apoptotic cell의 percentage로 측정하였다. 그 결과, 헥산 및 디클로로메탄 분획물에서 HL-60 세포에 25  $\mu$ g/mL의

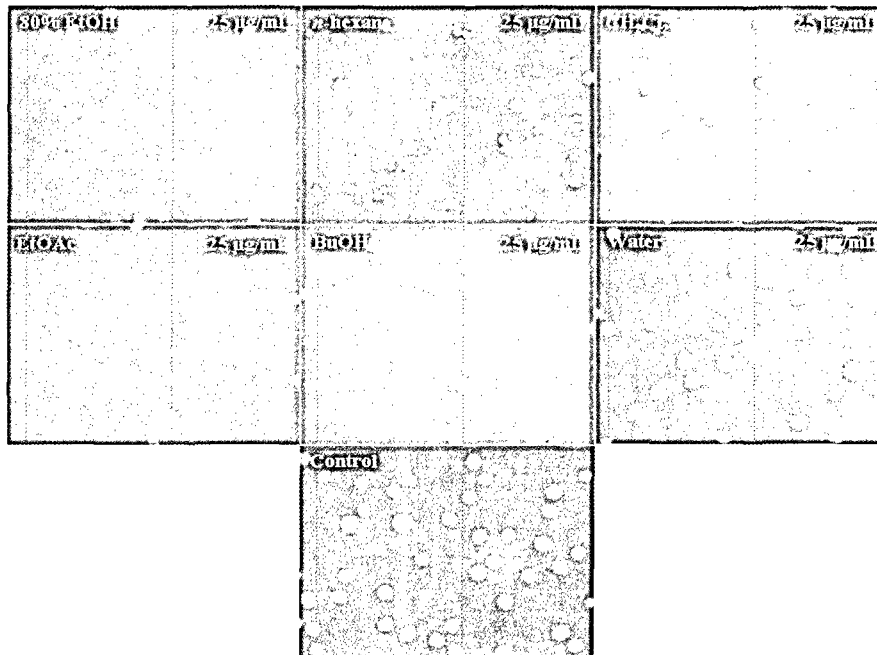
농도로 처리하여 control과 비교 관찰시, sub-G<sub>1</sub> hypodiploid 세포가 control(5.75%)에 비해 에탄올 추출물은 9.09%, 헥산 분획물은 84.83%, 디클로로메탄 분획물은 85%, 에틸아세테이트 분획물은 15.52%, 부탄올 분획물은 7.31% 그리고 수용성 분획물은 6.21%로 나타났다. 특히 헥산과 디클로로메탄 분획물인 경우는 조추출물인 에탄올 분획물에 비하여 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 세포가 약 5배 정도 감소되었고 sub-G<sub>1</sub> hypodiploid 세포가 약 9.3배 이상 증가하였다(Table 3).

세포는 성장 분열을 하기 위해서 G<sub>1</sub> 세포주기를 거쳐 S 세포주기로 이행되어야 한다(23). 대부분의 종말 분화 세포

**Table 3.** Effect of *Artemisia fukudo* extracts on cell cycle distribution in HL-60 cells

Treatment (25 $\mu$ g/mL)	% of cells			
	Sub-G <sub>1</sub>	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub> /M
Control	5.75	47.20	24.26	22.77
80% EtOH	9.09	44.58	25.45	20.77
<i>n</i> -Hexane	84.83	9.15	5.05	1.07
$CH_2Cl_2$	85.00	8.30	5.79	1.12
EtOAc	15.52	40.92	23.33	20.18
BuOH	7.31	42.25	26.92	23.51
Water	6.21	47.34	27.34	19.18

HL-60 cells ( $3.5 \times 10^5$ /mL) were treated with 25  $\mu$ g/mL of *A. fukudo* extracts for indicated 24 hr. For the measurement of sub-G<sub>1</sub> hypodiploid cells, the extract treated cells were harvested and fixed in 70% ethanol for 30 min at 4°C. The cells were incubated in the 50  $\mu$ g/mL of propidium iodide solution and 50  $\mu$ g/mL of RNase A for 10 min at 37°C. Flow cytometric analysis was performed with BD FACSCallibur flow cytometer (BD, USA).



**Fig. 2.** The degree of apoptosis is represented as the DNA content measured by the photographs showing cells with highly condensed nuclei stained with Hoechst 33342.

HL-60 cells ( $3.5 \times 10^5$ /mL) were treated with *A. fukudo* extracts (25  $\mu$ g/mL) for a 24 hr.

들은 거의 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 세포주기에 머물러 있다가 결국 세포의 자연사(apoptotic cell death)를 맞게 된다. 세포가 손상을 입게 되면 세포분열을 하기 전에 G<sub>1</sub> 세포주기에 머물면서 세포자연사(apoptosis)로 갈 것인지, 혹은 손상을 수복한 후 재분열을 할 것인지를 결정하게 된다(24). 그래서 G<sub>1</sub> 세포주기는 세포의 항상성 유지에 필수적인 과정이라 할 수 있다.

따라서 큰비쭉의 핵산 및 디클로로메탄 분획물에 의해 G<sub>1</sub> 세포주기가 arrest 되면서 sub-G<sub>1</sub> hypodiploid 세포가 증가된다는 결과는 앞 실험결과인 암세포 증식 억제 현상이 apoptosis 유도에 의해 일어남을 간접적으로 뒷받침해줄 수 있는 결과라 할 수 있다.

#### 핵의 형태학적 변화

Apoptosis 기전에 대하여는 확실하게 증명된 바는 없지만 세포질내 칼슘치가 증가되어 칼슘의존성 endonuclease가 활성화되어 핵내 DNA 분절이 일어나며, transglutaminase가 활성화되어 세포질내 단백질의 cross-linking이 일어나면서 세포질 농축이 일어나고 수액이 세포 밖으로 빠져나가면서 apoptotic bodies를 형성하는 것으로 알려져 있다(25-28). 이에 apoptosis가 일어난 세포에서 볼 수 있는 가장 특징적인 변화인 형태학적 변화를 조사하였다. 그 결과 정상 세포핵의 형태는 정상적인 둥근 형태이나 핵산과 디클로로메탄 분획물이 처리된 세포에서는 세포의 크기가 축소되며, 핵의 모양이 불규칙하고 부분적인 핵의 응집현상을 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

Lee(29)는 사람 자궁경부암 세포주인 HeLa 세포에 사철쭉 메탄올과 에틸아세테이트 분획물을 처리하였을 때 세포막의 blebbing 및 핵의 분절화 등 세포자연사의 전형적인 특징들이 관찰된다고 보고하였다.

#### 요 약

본 연구는 큰비쭉을 80% EtOH로 추출하고 극성에 따른 용매분획을 실시하여 혈핵암 세포주를 대상으로 분획별에 따른 암세포 증식억제(cytotoxicity) 효과와 이러한 혈핵암 세포주에 대한 세포독성 효과가 세포자연사(apoptosis)에 의해 일어나는 것인지, 몇 가지 apoptosis 유도 실험을 통해 확인해 보았다. HL-60 세포에 대한 증식억제 효과는 전반적으로 모든 처리구에서 농도의존적인 세포증식 억제효과가 나타났으며, 특히 핵산과 디클로로메탄 분획물에서 가장 강한 세포성장 억제효과가 나타났다. 이러한 세포성장 억제효과가 apoptosis 유도에 의한 것인지 알아보기 위해 apoptosis 유도에 의한 세포사멸의 특징인 DNA 단편화 현상을 비롯하여 세포형태학적 변화 및 유동세포분석기를 통한 DNA content를 측정된 결과, 큰비쭉 추출물에 의한 암세포 증식 억제효과는 apoptosis를 유도하여 세포자연사를 통해 세포의 성장을 억제하는 것으로 확인되었다.

#### 감사의 글

본 연구는 산업자원부 지방기술혁신사업(RTI04-02-07) 지원으로 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

#### 문 헌

1. Astrow AB. 1994. Rethinking cancer. *Lancet* 343: 494-495.
2. Chung YT, Park ST, Mun JY, Kim JM, Choi MK, Han DS, Kim B. 1987. Cytotoxic effects of actinomycin D, adriamycin and puromycin in the development stage of early mouse embryos. *J Wonkwang Medical Sci* 3: 13-34.
3. Yamazaki M, Ueda H, Fukada K, Okamoto M, Yui S. 1992. Priming effects of vegetable juice on endogenous products of tumor necrosis factor. *Biosci Biotech Biochem* 56: 149.
4. Tompson J, Biggers JD. 1966. Effects of inhibitors of protein synthesis on the development of preimplantation mouse embryos. *Exp Cell Res* 41: 411-427.
5. Ellem KO, Gwatkin RBL. 1968. Patterns of nucleic acid synthesis in the early embryos. *Devel Biol* 118: 311-330.
6. Meyn RE, Stephens LC, Hunter NR, Milas L. 1995. Apoptosis in murine tumors treated with chemotherapy agents. *Anticancer Drugs* 6: 443-450.
7. Ames BN. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 221: 1256-1264.
8. Wattenberg LW. 1985. Chemoprevention of cancer. *Cancer Res* 45: 1-8.
9. Okai Y, Higashi-Okai K, Yano Y, Otani S. 1996a. Identification of antimutagenic substances in an extract of edible red algae. *Cancer Lett* 100: 235-240.
10. Okai Y, Higashi-Okai K, Yano Y, Otani S. 1996. Suppressive effects of chlorophyllin on mutagen-induced umu C gene expression in *Salmonella typhimurium* and tumorpromoter-dependent ornithine decarboxylase induction in BALB/c 3T3 fibroblast cells. *Mutat Res* 370: 11-17.
11. Hwang WI. 1992. A study on the growth inhibition of human colon cancer cells by eucommial leaf extract. *Korean J Food Nutr* 5: 13-21.
12. Park SY, Yang HC, Moon JY, Lee NH, Kim SJ, Kang JH, Lee YK, Park DB, Yoo ES, Kang HK. 2005. The cytotoxicity of eutigosides from *Eurya emarginata* against HL-60 promyelocytic leukemia cells. *Arch Pharm Res* 28: 1047-1052.
13. Tan RX, Zheng WF, Tang HQ. 1998. Biologically active substances from the genus *Artemisia*. *Planta Medica* 64: 295-302.
14. Kim JO, Kim YS, Lee JH, Kim MN, Rhee SH, Moon SH, Park KY. 1992. Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort (*Artemisia asiatica* Nakai) leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 308-313.
15. Lee H, Lin JY. 1988. Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine. *Mutat Res* 204: 229-234.
16. Hwang YK, Kim DC, Hwang WI, Han YB. 1998. Inhibitory effect of *Artemisia princeps* Pampan extract on growth of cancer cell lines. *Korean J Nutr* 31: 799-808.
17. Xu Q, Mori H, Sakamoto O, Uesugi Y, Koda A. 1989. Immunological mechanisms of antitumor activity of some kinds of crude drugs on tumor necrosis factor production. *Int J Immunopharmacol* 11: 607-614.
18. Ryakhovskaya TV, Ushbaeva GG, Zhemaletdinov FG. 1989.

- The antitumor activity of phenol compounds from some *Artemisia* spp L. *Rastit Resur* 25: 249-253.
19. Lee TB. 1979. *Illustrated Flora of Korea*. Hyangmoon Publishing Co., Seoul, Korea. p 757.
  20. Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF. 1987. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemisensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936-942.
  21. Lee MK, Choi GP, Ryu LH, Lee GY, Yu CY, Lee HY. 2004. Enhanced immune activity and cytotoxicity of *Artemisia capillaris* Thunb. extracts against human cell lines. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 36-42.
  22. Hu YQ, Tan RX, Chu MY, Zhou J. 2000. Apoptosis in human hepatoma cell line SMMC-7721 induced by water-soluble macromolecular components of *Artemisia capillaris* Thunberg. *Jpn J Cancer Res* 91: 113-117.
  23. Sherr CJ. 1993. Mammalian G1 cyclins. *Cell* 73: 1059-1065.
  24. Hartwell LH, Weinert TA. 1989. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle event. *Science* 246: 629-634.
  25. Wyllie AH. 1992. Apoptosis and the regulation of cell numbers in normal and neoplastic tissues: an overview. *Cancer Metastasis Rev* 11: 95-103.
  26. Fesus L, Davies PJA, Piacentini M. 1991. Apoptosis: molecular mechanisms in the programmed of cell death. *Eur J Cell Biol* 56: 170-177.
  27. Fesus L, Thomazy V, Autuori F, Ceru MP, Tarcsa E, Piacentini M. 1989. Apoptotic hepatocytes become insoluble in detergents and chaotropic agents as a result of transglutaminase action. *FEBS Lett* 245: 150-154.
  28. Piacentini M, Autuori F, Dini L, Farrace MG, Ghibelli L, Piredda L, Fesus L. 1991. Tissue transglutaminase is specifically expressed in neonatal rat liver cells undergoing apoptosis upon epidermal growth factor stimulation. *Cell Tissue Res* 263: 227-235.
  29. Lee HJ. 2000. Effects of *Artemisia capillaris* thunberg on liver lipid metabolism in rats and apoptosis in HeLa cells. *PhD Dissertation*. Wonkwang University, Korea. p 46-47.

(2007년 3월 26일 접수; 2007년 4월 13일 채택)