

# Acetaminophen과 Acetaldehyde로 유발된 간세포독성에 대한 애엽 물추출물의 영향

박완수\*

경원대학교 한의과대학 병리학교실

## Effect of Water Extract from *Artemisiae Argi Folium* on Hepatotoxicity Caused by Acetaminophen and Acetaldehyde

Wan Su Park\*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

The purpose of this study is to investigate the effect of water extract from *Artemisiae Argi Folium* (WAAF) on hepatotoxicity caused by acetaminophen (AAP) and acetaldehyde which are regarded as hepatotoxin. *Artemisiae Argi Folium* was known to have the antibacterial, immune-enhancing, and anticoagulative properties. In Korean Medicine, *Artemisiae Argi Folium* is supposed to be related with 'liver meridian' according to traditional medical theory. AAP and acetaldehyde reduce the intracellular production of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and nitric oxide (NO) production of human hepatocyte HepG2. The intracellular production of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) was measured by dihydrorhodamine 123 (DHR) assay. NO production was measured with Griess test. WAAF increased the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NO reduced by AAP and acetaldehyde in HepG2 cells. Therefore, It could be suggested that WAAF has the hepatoprotective activity against AAP and acetaldehyde.

Key words : hepatocyte, cytotoxicity, *Artemisiae Argi Folium*, acetaminophen, acetaldehyde

### 서 론

애엽(艾葉; *Artemisiae Argi Folium*)은 성(性)이 따듯하고 맵고 쓴 맛(辛苦之味)을 가지고 있으며 약간 독(小毒)이 있는 것으로 알려져 있다. 애엽의 귀경은 간(肝), 비(脾), 신(腎) 등이다. 주요한 효능으로는 찬 기운을 흩어서 통증을 멈추게 하고(散寒止痛), 경락을 따듯하게 하여 출혈을 멎게(溫經止血) 하는 것이다. 주치증(主治症)에는 아랫배가 차고 아픈 것(少腹冷痛), 월경부조, 자궁이 냉하여 임신이 잘 안되는 것(宮冷不孕), 피를 토하는 것(吐血), 코피를 흘리는 것(衄血), 월경양이 지나치게 많은 것(崩漏經多), 임신으로 인한 하혈(妊娠下血) 등이며 그밖에 외용(外用)으로 피부가려움증에 적용되기도 하고, 뜸치료에 재료로서 사용되기도 한다<sup>1,2)</sup>.

최근 한약재 혹은 한약물에 대한 안전성에 대하여 많은 관

심들이 제기되고 있다. 또한 천연물에 의한 간독성, 급성 간염 등 간조직에 유해한 약리적 반응을 일으키는 현상에 대한 연구보고도 많이 이루어지고 있다<sup>3-6)</sup>. 그러나 한약재나 한약의 성분이 오히려 간조직에서 발생하는 다양한 병리적 현상을 완화하는 효과를 가지는 보고도 많이 이루어지고 있다<sup>7-12)</sup>.

본 연구에서는 간경(肝經)으로 귀경(歸經)하는 약물 중의 하나인 애엽(艾葉)이 대표적 간독성물질로 알려진 Acetaminophen (AAP)과 Acetaldehyde에 의해서 유발되는 간조직세포의 병리적 현상에 미치는 영향에 대해 조사한 결과 독성완화의 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 1. 재료

##### 1) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약 중 Acetaminophen(AAP)과 Acetaldehyde, Dimethyl Sulfoxide (DMSO), dihydrorhodamine

\* 교신저자 : 박완수, 경기도 성남시 수정구 복정동 경원대학교 한의과대학

· E-mail : pws98@kyungwon.ac.kr, · Tel : 031-750-8821

· 접수 : 2008/08/23 · 수정 : 2008/09/16 · 채택 : 2008/10/06

123 (DHR), Griess reagent 등은 Sigma사(ST. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 각 시약의 품질은 분석용 등급 이상의 것으로 하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 기기는 rotary vacuum evaporator (Eyela, Tokyo, Japan), freeze dryer (Eyela, Tokyo, Japan), deep freezer (Revco, NC, USA), microplate reader (Bio-Rad, CA, USA) 등이다.

## 2) 약제

본 실험에 사용된 약제 애엽(*Artemisiae Argi Folium*)은 한국 서해안에서 채취하여 검정한 후 사용하였으며 검정된 약제들은 경원대학교 한의과대학 병리학교실에 보관되었다.

## 2. 방법

### 1) 시료의 제조

애엽(*Artemisiae Argi Folium*) 50 g을 전기약탕기에 1차 증류수 1,000 mL와 함께 넣은 뒤 150분 동안 가열, 추출하였다. 추출액을 filter paper로 감압 여과한 뒤, 여과액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축하였다. 이 농축액을 동결건조기를 이용, 건조하여 6 g(수득률 12%)의 애엽 물추출물(Water Extract of *Artemisiae Argi Folium*; WAAF)을 얻어 시료로 사용하였다.

### 2) Cell line

실험에 사용된 간조직세포는 human hepatocyte(HepG2 cell line)로서 한국세포주은행(KCLB, Korea)에서 구입하였다.

### 3) 세포 배양

HepG2 cells은 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 10% FBS, penicillin (100 U/mL), streptomycin (100 µg/mL)이 첨가된 DMEM 배지로 배양되었다. Cells은 75 cm<sup>2</sup> flask (Falcon, USA)에서 충분히 증식된 후 배양 3일 간격으로 배양세포 표면을 phosphate buffered saline (Sigma, USA) 용액으로 씻어준 후 75cm<sup>2</sup> flask 당 3 mL의 0.25 % trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37 °C에서 5분간 보관하여 세포를 탈착하여 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10 % FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 mL에 부유시킨 다음 새로운 배양용기에 옮겨 1 : 2의 split ratio로 CO<sub>2</sub> 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 배양하였다.

### 4) Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) assay

세포내의 hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 생성은 Roesler 등<sup>13-17)</sup>의 방법을 응용, dihydrorhodamine 123 (DHR) assay를 실시하여 측정하였다. DHR은 비형광이지만 세포 내에서 세포 내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의하여 산화되어 녹색의 형광을 발현하는 물질인 rhodamine 123(R123)로 바뀌게 된다. 그러므로 여러 가지 산화적 반응을 일으키는 물질들로 인해 인간 간조직세포인 HepG2에서 발생하는 hydrogen peroxide의 수준을 dihydrorhodamine 123 assay을 이용하여 측정할 수 있다. 본 실험에서는 AAP, acetaldehyde 등이 유발하는 세포내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성억제에 대한 시료의 영향을 측정하였다. 96 well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 분주되도록 1×10<sup>5</sup> cells/mL의 cell을 100 µl씩 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24 시간동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 씻어주었다. 시료를 처리하기 전

에 우선 DHR(10 µM)이 담긴 배지를 30분간 각 well에 처리한 뒤 배지를 제거하였다. 배지를 제거한 후 AAP(2 mM)과 acetaldehyde(200 µM) 단독 혹은 시료(10, 50, 100, 200, 400 µg/mL)와 함께 배지에 담아 각 well에 처리하고 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한 후 microplate reader(Bio-Rad, CA, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정, 비교하였다.

### 5) Nitric oxide(NO) 생성 측정

Human hepatocyte HepG2로부터 생성되는 nitric oxide의 양은 세포 배양액 중에 존재하는 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>를 griess 시약을 이용하여 측정하는 것으로 얻었다. 96 well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 분주되도록 1×10<sup>5</sup> cells/mL의 cell을 100 µl씩 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 씻어 주었다. 배지를 제거한 후 AAP(2 mM)과 acetaldehyde(200 µM) 단독 혹은 시료(10, 50, 100, 200, 400 µg/mL)와 함께 배지에 담아 각 well에 처리하고 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양이 끝난 후 상층액 100 µl을 채취하여 griess시약 100 µl을 혼합하고 15분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정, 비교하였다.

## 3. 통계처리

실험성적은 평균치 ± 표준편차 (Mean ± S.D.)로 나타내었으며, 대조군과 각 실험군과의 평균 차이는 Student t-test와 ANOVA test로 분석하여 P<0.05일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. AAP가 유발하는 HepG2 cell hydrogen peroxide 생성감소에 WAAF의 영향

Acetaminophen(AAP; 2 mM)으로 HepG2 cell 내 hydrogen peroxide 생성억제를 유발하고 WAAF(10, 50, 100, 200, 400 µg/mL)를 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AAP에 의한 세포내 hydrogen peroxide 생성억제를 각각 107.11±1.50, 110.36±2.27, 127.51±1.99, 150.04±1.99, 203.63±4.03%로 10 µg/mL 이상의 농도에서 모두 유의하게(p<0.05) 회복시켰다 (Fig. 1).

### 2. Acetaldehyde가 유발하는 HepG2 cell 내 hydrogen peroxide 생성감소에 WAAF의 영향

Acetaldehyde(200 µM)으로 HepG2 cell 내 hydrogen peroxide 생성억제를 유발하고 WAAF(10, 50, 100, 200, 400 µg/mL)를 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 Acetaldehyde에 의한 세포내 hydrogen peroxide 생성억제를 각각 107.16±2.71, 113.51±2.11, 129.49±2.32, 153.57±3.40, 211.05±6.08%로 10 µg/mL 이상의 농도에서 모두 유의하게(p<0.05) 회복시켰다(Fig. 2).



Fig. 1. Effect of WAAF on the intracellular production of hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) of HepG2 cell treated with acetaminophen (AAP; 2 mM). Cells were incubated with WAAF for 24 hr with AAP. Results are represented as mean ± S.D. WAAF : Water extract of Water Extract of *Artemisiae Argi Folium*. Normal : Not treated with AAP. Control : Treated with AAP only. # represents P < 0.05 compared to the normal. \* represents P < 0.05 compared to the control.

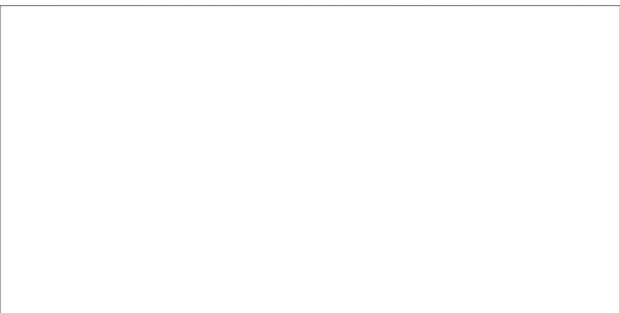


Fig. 2. Effect of WAAF on the intracellular production of hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) of HepG2 cell treated with acetaldehyde (200 uM). Cells were incubated with WAAF for 24 hr with acetaldehyde. Results are represented as mean ± S.D. WAAF : Water extract of Water Extract of *Artemisiae Argi Folium*. Normal : Not treated with AAP. Control : Treated with acetaldehyde only. # represents P < 0.05 compared to the normal. \* represents P < 0.05 compared to the control.

3. AAP가 유발하는 HepG2 cell의 NO 생성감소에 WAAF의 영향  
 Acetaminophen(AAP; 2 mM)으로 HepG2 cell 내 NO 생성 억제제를 유발하고 WAAF(10, 50, 100, 200, 400 µg/mL)를 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AAP에 의한 NO 생성억제를 10, 100, 400 µg/mL의 농도에서 각각 146.79±31.71, 124.31±23.33, 233.03±26.71%로 유의하게(p<0.05) 회복시켰다(Fig. 3).

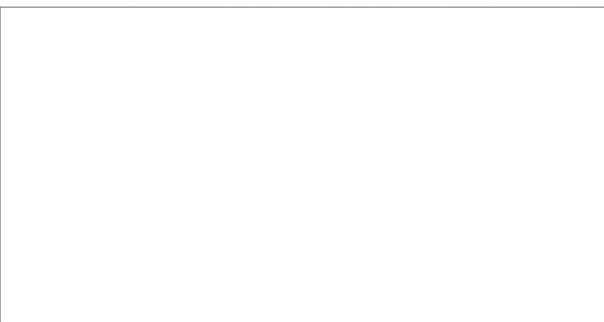


Fig. 3. Effect of WAAF on the cellular production of nitric oxide (NO). NO production from HepG2 cell was measured by Griess test. Cells were incubated with WAAF for 24 hr with AAP (2 mM). Results are represented as mean ± S.D. WAAF : Water extract of Water Extract of *Artemisiae Argi Folium*. Normal : Not treated with AAP. Control : Treated with AAP only. # represents P < 0.05 compared to the normal. \* represents P < 0.05 compared to the control.

4. Acetaldehyde가 유발하는 HepG2 cell의 NO 생성감소에 대한 WAAF의 영향

Acetaldehyde(200 uM)로 HepG2 cell 내 NO 생성억제를 유발하고 WAAF(10, 50, 100, 200, 400 µg/mL)를 함께 처리하여 24 시간동안 배양한 결과 Acetaldehyde에 의한 NO 생성억제를 10, 100, 200, 400 µg/mL의 농도에서 각각 144.98±22.13, 117.47±17.45, 137.99±20.90, 236.24±18.20%로 유의하게(p<0.05) 회복시켰다(Fig. 4).

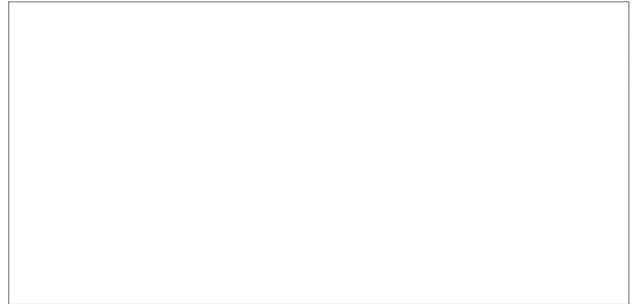


Fig. 4. Effect of WAAF on the cellular production of nitric oxide (NO). NO production from HepG2 cell was measured by Griess test. Cells were incubated with WAAF for 24 hr with Acetaldehyde (200 uM). Results are represented as mean ± S.D. WAAF : Water extract of Water Extract of *Artemisiae Argi Folium*. Normal : Not treated with AAP. Control : Treated with Acetaldehyde only. # represents P < 0.05 compared to the normal. \* represents P < 0.05 compared to the control.

## 고찰

에엽(*Artemisiae Argi Folium*)은 국화과에 속한 다년생 초본 황해쭉(*Artemisia argyi* L.)의 잎을 건조한 것으로, 여름에 꽃이 아직 피지 않았을 때 채취하여 햇볕에서 말린 후 사용한다. 성미(性味)는 따뜻하나 독이 약간 있고(溫有小毒) 맵고 쓴 것(辛苦)으로 알려져 있다. 간(肝), 비(脾), 신(腎) 등으로 귀경(歸經)하며 산한지통(散寒止痛), 온경지혈(溫經止血)하는 효능이 있어서 소복냉통(少腹冷痛), 월경부조, 궁냉불영(宮冷不孕), 토혈(吐血), 녹혈(衄血), 붕루경다(崩漏經多) 등을 치료한다<sup>1)</sup>. 주요한 성분으로는 휘발성 정유가 약 0.2~0.5% 함유되어 있는데, cineole가 약 50%, limonene, α-thujone, α-pinene, β-pinene, α-terpineneol 등으로 구성되며 이 외에도 adenine, choline, vitamin A·B·C·D와 amylase 등이 포함되어 있으며 진해거담평천(鎮咳祛痰平喘) 작용, 항혈액응고 작용, 면역증강 작용, 항균 작용 등<sup>2)</sup>이 있는 것으로 알려져 있다. 최근에는 약리활성을 가진 플라보노이드의 일종인 Jaceosidin, 그리고 그 밖에 scopoletin, isoscapoletin, Arteminolides B·C·D, Eudesmanolides 등이<sup>18-21)</sup> 보고되어 있다. 이 밖에 艾葉에 대한 선행 연구로는 정 등<sup>22)</sup>이 황해쭉 물분획물의 L1210 세포에 대한 세포독성과 항산화효소 활성변화에 대하여 보고하였고 김 등<sup>23)</sup>은 황해쭉의 열수 및 메탄올 추출액이 H9(ATCC HTB176) 암세포에 대한 세포독성을 나타내는 것과 CuZnSOD와 MnSOD 활성을 증가시킨다는 것을 보고하였다.

본 연구에서는 간독성을 유발하는 것으로 알려져 있는 AAP와 acetaldehyde에 의한 인간 간조직세포 HepG2 cell의 세포내

hydrogen peroxide 생성억제와 NO 생성감소에 대한 애엽 열수 추출물 WAAF가 미치는 영향에 대해서 알아보았다.

Acetaminophen(2 mM)으로 HepG2 cell 내 hydrogen peroxide 생성억제를 유발하고 WAAF(10, 50, 100, 200, 400  $\mu$ g/mL)를 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AAP에 의한 세포내 hydrogen peroxide 생성감소를 각각 107.11 $\pm$ 1.50, 110.36 $\pm$ 2.27, 127.51 $\pm$ 1.99, 150.04 $\pm$ 1.99, 203.63 $\pm$ 4.03%로 10  $\mu$ g/mL 이상의 농도에서 모두 유의하게( $p < 0.05$ ) 회복시켰다(Fig. 1). Acetaldehyde(200  $\mu$ M)으로 HepG2 cell 내 hydrogen peroxide 생성감소를 유발하고 WAAF(10, 50, 100, 200, 400  $\mu$ g/mL)를 함께 처리하여 24시간동안 배양한 경우에도 각각 107.16 $\pm$ 2.71, 113.51 $\pm$ 2.11, 129.49 $\pm$ 2.32, 153.57 $\pm$ 3.40, 211.05 $\pm$ 6.08%로 acetaldehyde에 의한 세포내 hydrogen peroxide 생성억제를 10  $\mu$ g/mL 이상의 농도에서 모두 유의하게( $p < 0.05$ ) 회복시켰다(Fig. 2).

AAP(2 mM)로 HepG2 cell 내 NO 생성억제를 유발하고 WAAF(10, 50, 100, 200, 400  $\mu$ g/mL)를 함께 처리하여 24시간동안 배양한 결과 AAP에 의한 NO 생성감소를 10, 100, 400  $\mu$ g/mL의 농도에서 각각 146.79 $\pm$ 31.71, 124.31 $\pm$ 23.33, 233.03 $\pm$ 26.71%로 유의하게( $p < 0.05$ ) 회복시켰다(Fig. 3). Acetaldehyde (200  $\mu$ M)로 HepG2 cell의 NO 생성감소를 유발하고 WAAF(10, 50, 100, 200, 400  $\mu$ g/mL)를 함께 처리하여 24시간동안 배양한 경우에는 Acetaldehyde에 의한 NO 생성억제를 WAAF가 10, 100, 200, 400  $\mu$ g/mL의 농도에서 각각 144.98 $\pm$ 22.13, 117.47 $\pm$ 17.45, 137.99 $\pm$ 20.90, 236.24 $\pm$ 18.20%로 유의하게( $p < 0.05$ ) 회복시켰다(Fig. 4). 이러한 결과는 간독성을 유발하는 것으로 알려진 AAP와 acetaldehyde에 의해서 유발되는 간조직세포의 세포내 hydrogen peroxide 생성감소, 세포의 NO 생성감소 등의 병리적 변화를 애엽 물추출물이 회복시킬 수 있음을 의미하며 애엽 물추출물이 독성물질에 의한 간손상을 완화하는 효과를 나타내는 것이라 할 수 있다.

## 결 론

애엽(*Artemisiae Argi Folium*)의 물추출물 WAAF는 간독성을 일으킬 수 있는 것으로 알려진 acetaminophen과 acetaldehyde에 의해 유발되는 인간 간조직세포 HepG2 cell 내 hydrogen peroxide 생성감소를 10  $\mu$ g/mL 이상의 농도에서 모두 유의하게 회복시켰다. 또한 WAAF는 AAP에 의해서 유발되는 인간 간조직세포 HepG2 cell의 nitric oxide 생성감소를 10, 100, 400  $\mu$ g/mL의 농도에서 각각 146.79 $\pm$ 31.71, 124.31 $\pm$ 23.33, 233.03 $\pm$ 26.71%로 유의하게( $p < 0.05$ ) 회복시켰으며 acetaldehyde에 의해서 유발된 경우에도 10, 100, 200, 400  $\mu$ g/mL의 농도에서 각각 144.98 $\pm$ 22.13, 117.47 $\pm$ 17.45, 137.99 $\pm$ 20.90, 236.24 $\pm$ 18.20%로 유의하게 HepG2 cell의 nitric oxide 생성감소를 회복시켰다. 이러한 결과는 애엽 물추출물이 간독성을 유발하는 물질에 의한 간조직세포의 병리적 현상을 완화하는 효과를 가지고 있음을 알려준다. 앞으로 간조직세포의 손상회복제로서 애엽의 효과에 대

한 보다 면밀한 연구가 필요한 것으로 사료되는 바이다.

## 참고문헌

1. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울, 영림사, pp 405-407, 1991.
2. 김호철. 한약약리학. 서울, 집문당, pp 309-311, 2001.
3. Chitturi, S., Farrell, G.C. Hepatotoxic slimming aids and other herbal hepatotoxins. J Gastroenterol Hepatol. 23(3):366-373, 2008.
4. Zhou, S.F., Xue, C.C., Yu, X.Q., Wang, G. Metabolic activation of herbal and dietary constituents and its clinical and toxicological implications: an update. Curr Drug Metab. 8(6):526-553, 2007.
5. Savvidou, S., Goulis, J., Giavazis, I., Patsiaoura, K., Hytiroglou, P., Arvanitakis, C. Herb-induced hepatitis by Teucrium polium L. report of two cases and review of the literature. Eur J Gastroenterol Hepatol. 19(6):507-511, 2007.
6. Saad, B., Azaizeh, H., Abu-Hijleh, G., Said, O. Safety of traditional arab herbal medicine. Evid Based Complement Alternat Med. 3(4):433-439, 2006.
7. Yuan, L.P., Chen, F.H., Ling, L., Dou, P.F., Bo, H., Zhong, M.M., Xia, L.J. Protective effects of total flavonoids of Bidens pilosa L. (TFB) on animal liver injury and liver fibrosis. J Ethnopharmacol. 116(3):539-546, 2008.
8. Yen, F.L., Wu, T.H., Lin, L.T., Cham, T.M., Lin, C.C. Nanoparticles formulation of Cuscuta chinensis prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Food Chem Toxicol. 46(5):1771-1777, 2008.
9. Lin, H.M., Tseng, H.C., Wang, C.J., Lin, J.J., Lo, C.W., Chou, F.P. Hepatoprotective effects of Solanum nigrum Linn extract against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative damage in rats. Chem Biol Interact. 171(3):283-293, 2008.
10. Balderas-Renteria, I., Camacho-Corona, Mdel. R., Carranza-Rosales, P., Lozano-Garza, H.G., Castillo-Nava, D., Alvarez-Mendoza, F.J., Tamez-Cantú, E.M. Hepatoprotective effect of Leucophyllum frutescens on Wistar albino rats intoxicated with carbon tetrachloride. Ann Hepatol. 6(4):251-254, 2007.
11. Kim, E.Y., Kim, E.K., Lee, H.S., Sohn, Y., Soh, Y., Jung, H.S., Sohn, N.W. Protective effects of Cuscutae semen against dimethylnitrosamine-induced acute liver injury in Sprague-Dawley rats. Biol Pharm Bull. 30(8):1427-1431, 2007.
12. Zhong, M.M., Chen, F.H., Yuan, L.P., Wang, X.H., Wu, F.R., Yuan, F.L., Cheng, W.M. Protective effect of total flavonoids from Bidens bipinnata L. against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. J Pharm

- Pharmacol. 59(7):1017-1025, 2007.
13. Jirapongsananuruk, O., Malech, H.L., Kuhns, D.B., Niemela, J.E., Brown, M.R., Anderson-Cohen, M., Fleisher, T.A. Diagnostic paradigm for evaluation of male patients with chronic granulomatous disease, based on the dihydrorhodamine 123 assay. *J Allergy Clin Immunol.* 111(2):374-379, 2003.
  14. Richardson, M.P., Ayliffe, M.J., Helbert, M., Davies, E.G. A simple flow cytometry assay using dihydrorhodamine for the measurement of the neutrophil respiratory burst in whole blood: comparison with the quantitative nitrobluetetrazolium test. *J Immunol Methods.* 219(1-2):187-193, 1998.
  15. Crow, J.P. Dichlorodihydrofluorescein and dihydrorhodamine 123 are sensitive indicators of peroxynitrite in vitro: implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. *Nitric Oxide.* 1(2):145-157, 1997.
  16. van Pelt, L.J., van Zwieten, R., Weening, R.S., Roos, D., Verhoeven, A.J., Bolscher, B.G. Limitations on the use of dihydrorhodamine 123 for flow cytometric analysis of the neutrophil respiratory burst. *J Immunol Methods.* 191(2):187-196, 1996.
  17. Roesler, J., Hecht, M., Freihorst, J., Lohmann-Matthes, M.L., Emmendorffer, A. Diagnosis of chronic granulomatous disease and of its mode of inheritance by dihydrorhodamine 123 and flow microcytofluorometry. *Eur J Pediatr.* 150(3):161-165, 1991.
  18. Kim, M.J., Kim, D.H., Lee, K.W., Yoon, D.Y., Surh, Y.J. Jaceosidin induces apoptosis in ras-transformed human breast epithelial cells through generation of reactive oxygen species. *Ann N Y Acad Sci.* 1095: 483-495, 2007.
  19. Jeong, M.A., Lee, K.W., Yoon, D.Y., Lee, H.J. Jaceosidin, a pharmacologically active flavone derived from *Artemisia argyi*, inhibits phorbol-ester-induced upregulation of COX-2 and MMP-9 by blocking phosphorylation of ERK-1 and -2 in cultured human mammary epithelial cells. *Ann N Y Acad Sci.* 1095: 458-466, 2007.
  20. Lee, H.G., Yu, K.A., Oh, W.K., Baeg, T.W., Oh, H.C., Ahn, J.S., Jang, W.C., Kim, J.W., Lim, J.S., Choe, Y.K., Yoon, D.Y. Inhibitory effect of jaceosidin isolated from *Artemisia argyi* on the function of E6 and E7 oncoproteins of HPV 16. *J Ethnopharmacol.* 98(3):339-343, 2005.
  21. Adams, M., Efferth, T., Bauer, R. Activity-guided isolation of scopoletin and isoscapoletin, the inhibitory active principles towards CCRF-CEM leukaemia cells and multi-drug resistant CEM/ADR5000 cells, from *Artemisia argyi*. *Planta Med.* 72(9):862-864, 2006.
  22. 정대영, 박시원. 황해쑥 물분획물의 L1210 세포에 대한 세포 독성과 항산화효소 활성변화. *약학회지* 46(1):39-46, 2002.
  23. 김경하, 정대영, 민태진, 박시원. 황해쑥(*Artemisia argyi*)의 열수 및 메탄올 추출액은 H9(ATCC HTB176)세포에 대한 세포독성 및 항산화효소 활성. *약학회지* 43(5):598-605, 1999.