韓藥作誌(Korean J. Medicinal Crop Sci.) 12(4) : 309 - 314(2004)

Echinacea purpurea L. 추출물 및 분획물의 암세포 독성

박진홍* · 이미경* · 문형철* · 최근표** · 이서호* · 이현수* · 류이하*** · 이강윤**** · 이현용*†

*강원대학교 바이오산업공학부, **알엔지 바이오텍, ***주) 진로, ****유니온화학

Cytotoxicity of Extracts and Fractions from *Echinacea pupurea* L. on Human Cancer Cells

Jin Hong Park*, Mi Kyoung Lee*, Hyung Chul Mun*, Geun Pyo Choi**, Seo ho Lee*, Hyeon Soo Lee*, Lee Ha Ryu***, Gang Yoon Lee****, and Hyeon Yong Lee*†

*School of Biotechnology & Bioengineering, Kangwon Natl. Univ., Chunchon 200-701, Korea.

**R&G BioTech, Gangneung 210-821, Korea.

***JINRO Ltd., 1448-3, Seocho-dong, Seocho-ku, Seoul 137-866, Korea.

****UNION, 1-143, Gansuk-3-dong, Namdong-ku, Incheon 405-801, Korea.

ABSTRACT : The cytotoxic effects of water and ethanol extracts of *Echinacea purpurea* (L.) (EP) and chloroform, ethyl acetate, butanol and aqueous fractions from each extract of EP were examined. Every extract and fraction of EP inhibited the growth of human hepatocarcinoma, human gastric cancer cell, human breast cancer cells and human lung carcunoma in concentration-dependent manners over a concentration range of 0.05~1.0 mg/mℓ. Most extracts and fractions with the concentraction of 1 mg/mℓ showed strong inhibition of more than 70% for every cancer cell. Only aqueous fractions of each extract showed very weak inhibitons of 12 to 25% on the growth of human normal lung cell with the concentration of 1 mg/mℓ. Overall selectivity of the extrats and fractions on the four human cancer cell lines was over 2.5. These results indicate that EP has a very potent selective toxicity for cancer cells.

Key words : *Echinacea purpurea* L, extracts, fractions, cytotoxic activities, human lung carcunoma

서 언

생활수준의 향상과 건강에 대한 관심의 증대로 인하여 동서양에서는 기존의 의약품 외에 다양한 대체요법 및 치료방법, 그리고 기능성 식품들에 대한 관심이 높아지고 있다. 이중 식품이나 의약품에 분류되지 않는 미국의 건강보조식품이나 일본의 영양보조 식품군에서 널리 이용되는 것이 허브이며 이들 제품의 판매는 매년 10~15% 정도 증가하고 있다. 북미에서는 그중 echinacea 제품에 대한 인기가 가장 높다고 한다. 현재 우리나라에서는 식용으로서의 판매 및 재배는 허용되지 않고 있는 실정이다. 그러나 정보통신의 발달로 인하여 실제 echinacea 제품은 인터넷 등을 이용하여 쉽게 얻을 수 있다.

*Echinacea purpurea*는 감기와 독감 그리고 감염증을 예방하고 치료하기 위해 북미대륙의 인디언들에 의해 민간약초요법으로써 사용되어 온 북미의 국화과의 자생 식물로, 유럽에서는 면역기관을 증강시키는 데 사용되고 있으며 식도와 후두의 점막을 감염시키는 감기의 감염증에 저항하는 자연치유력을 증강시키는데 사용되고 있다.

또한 *Echinacea purpurea* 추출물은 현재 면역 촉진제로서 가장 잘 알려져 있어 호흡기 감염, 요로감염, 암, 피부질환과 다른 많은 염증과정에 비특이적 면역촉진제로서 이

† Corresponding author : (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@cc.kangwon.ac.kr
Received April 2, 2004 / Accepted July 21, 2004

용되고 있다 (Dorch 1996; Foster 1991). Echinacea의 면역촉진기능은 주로 세포성 면역작용의 주역들인 macrophages, natural killer cells, T-cells의 활성과 발육을 촉진시킴으로, 박테리아와 바이러스에 의한 감염으로부터 인체의 방어능력을 증가시킨다고 알려져 있으며, 추출액은 휘발성 오일, 다가불포화지방산, polyacetylene compounds, caffeic acid 유도체, flavonoid 및 다당류를 함유하고 있는데 이중 분자량이 약 7만 가까이 되는 acidic arabinorhamno-galactans이라는 다당류가 면역증강작용과 관련이 있는 것으로 밝혀졌으며 alkamide 성분은 염증억제작용을 가지고 있다고 보고되어져 있으나 그 독성에 관한 연구는 그리 보고되어 있지 않다. alkamide같은 lipophilic fraction이 Echinacea 알코올 추출물의 면역촉진 작용에 주로 기여하며, alkamide fraction이 in vivo와 in vitro에서 phagocyte 작용을 촉진시킨다는 보고가 있었다 (Bauer *et al.*, 1988; Bauer *et al.*, 1989). Echinacea의 alkamide는 주로 olefinic 및 또는 acetylenic bonds를 가진 고불포화 carboxylic acids의 isobutylamides로 항염증제로서 cyclooxygenase와 5- lipoxygenase를 억제시킨다는 보고가 있으며, 뿌리에서 얻은 배당체인 echinacoside와 다당류인 echinacin은 항균활성과 항곰팡이 활성을 가지며 (Lee & Koo 2002), 많은 연구에서 면역체계의 조절 기능을 보여주었음에도 불구하고 Echinacea의 항암 활성에 관한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 *Echinacea purpurea* 추출물의 암세포와 정상세포에 대한 독성을 탐색하여 이를 이용한 기능성 식품소재로서 개발을 위한 안전성에 대한 기초적인 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험 재료와 추출 및 분획 방법

본 실험에 사용한 Echinacea는 미국의 오하이오 서부지역에서 재배된 것을 사용하였다. 시료는 수직의 환류 냉각기가 부착된 추출 flask에 시료 중량 100 g에 대하여 각각 10배의 증류수와 ethanol을 사용하여 12시간 동안 2회 반복 추출하였다. 얻어진 추출물들은 감압 여과장치로 여과하여 농축 후 동결건조 하였다. 추출물 중 일부를 취하여, 물 추출물의 경우 바로 일정량의 증류수에 ethanol 추출물의 경우 1/10의 ethanol에 희석하여 증류수로 증량한 다음, chlorofrom, ethyl acetate, butanol로 순차 분획한 후, 마지막은 수층으로 하였다. 각각의 분획층들은 감압 농축 후, 남아있는 유기용매의 제거를 위해 다시 소량의 증류수에 현탁시킨 후 다시 농축하여 동결건조 하였다.

2. 암세포의 성장저해 및 독성 실험

실험에 사용된 암세포주는 인간 유래의 간암세포 (Hep3B), 위암세포 (AGS), 유방암세포 (MCF7), 폐암세포 (A549), 정상세포로는 인간 정상 폐세포 (HEL299)을 이용하였다. 세포 배양에 사용된 기본배지는 AGS, A549, HEL299에는 RPMI1640 (GIBCO, USA)을 Hep3B와 MCF7에는 DMEM (GIBCO, USA)을 사용하였으며, FBS는 10% 첨가하여 배양하였다. 암 세포의 생육저해와 정상세포의 세포독성은 sulforhodamineB (SRB) 방법을 이용하였다 (Doyle *et al.*, 1993; Dool *et al.* 1981). 실험에 사용한 세포의 초기 농도는 4×10^4 cells/㎖의 농도로 조절하여 96 well tissue culture microplate에 100 ㎕/well씩 접종하여 사용하였다. 37℃, 5% CO_2 incubator에서 24시간 배양한 후 최종농도가 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 ㎎/㎖가 되도록 조정한 시료를 100 ㎕씩 투여 한 후 48시간 배양하였다. 배양 후 상등액을 제거하고 차가운 trichloroacetic acid(TCA) 100 ㎕를 가하여 4℃에서 1시간동안 놓아둔 뒤 증류수로 4~5회 세척하여 TCA를 제거하였다. 다시 plate를 건조한 뒤 각 well에 1% acetic acid에 녹인 0.4% SRB용액을 100 ㎕씩 첨가, 상온에서 30분동안 염색한 후 1% acetic acid로 염색액을 충분히 세척, 건조하였다. 건조된 well에 10 mM Tris buffer 100 ㎕를 첨가하여 염색액을 녹여낸 후 microplate reader를 이용하여 540 ㎚의 흡광도를 측정하였다 (Kada *et al.*, 1986; Micael *et al.*, 1988; Lee *et al.*, 1996). 각 실험 결과들은 실험군에서 최대치와 최소치를 제외한 자료들의 평균을 계산하였으며, 각 평균치간의 차이는 student t-test에 의해 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

추출 및 분획수율

*Echinacea purpurea*의 증류수 및 에탄올 추출물로부터 각 유기용매를 이용하여 순차 분획한 수율은 Table 1과 같다. 물 추출물의 경우 chloroform 획분과 수층 획분이 각각 8.33%와 77.21%로 ethyl acetate에 비하여 높은 수율을 나타내었으나, 반면 에탄올 추출물은 butanol 획분이 15.51%로 비교적 높은 수율을 나타내었다. 이는 추출용매에 따라 용출되는 성분들의 극성이 매우 상이함을 나타내며, chloroform 획분의 수율이 높은 것은 실험 재료를 전초를 사용하여 엽록소 성분이 많이 포함되어있기 때문으로 사료되어진다.

정상 세포에 대한 독성

Echinacea의 추출물 및 분획물들의 정상세포에 대한 세

Table 1. Extraction yields of the water and ethanol extracts, and each solvent fraction from *Echinacea purpurea*.

Extraction solvent	Yields of extracts (%)	Step-wise fractionation of extracts	Yields (%)
Water (water Ex.)	31.54	Chloroform (W. C. Fr.)	8.33
		Ethyl acetate (W. E. Fr.)	1.05
		Butanol (W. B Fr.)	5.15
		Aqueous (W. A. Fr.)	77.21
Ethanol (ethanol Ex.)	9.72	Chloroform (E. C. Fr.)	12.13
		Ethyl acetate (E. E. Fr.)	7.78
		Butanol (E. B. Fr.)	15.51
		Aqueous (E. A. Fr.)	64.58

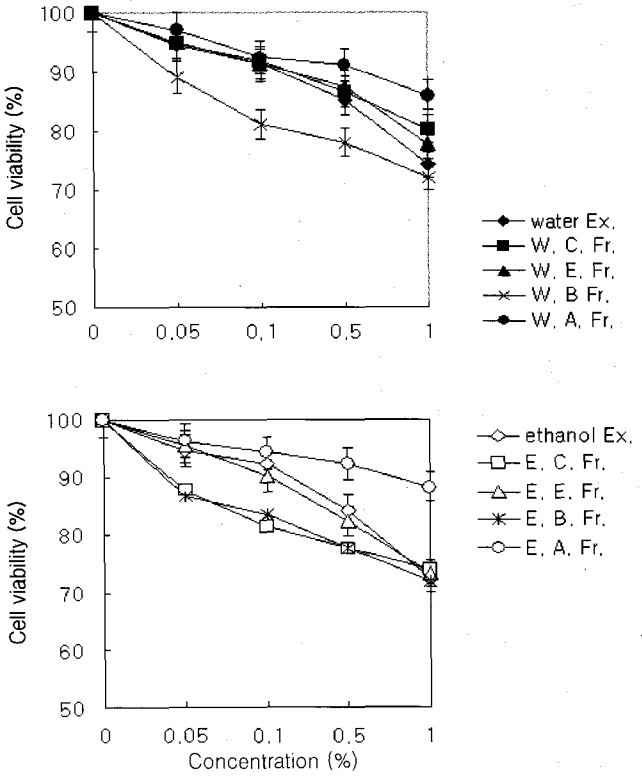

Fig. 1. Effects of the extracts and fractions from *Ehinacea purpurea* on HEL 299 viability (water Ex. : water extract, W. C. Fr. : chloroform fraction from water Ex., W. E. Fr. : ethyl acetate fraction from water Ex., W. B. Fr. : butanol fraction from water Ex., W. A. Fr. : aqueous fraction from water Ex., ethanol Ex. : ethanol extract, E. C. Fr. : chloroform fraction from EtOH Ex., E. E. Fr. : ethyl acetate fraction from EtOH Ex., E. B. Fr. : butanol fraction from EtOH Ex., E. A. Fr. : aqueous fraction from EtOH Ex.).

포독성을 측정한 결과는 Fig 1.에 나타내었다. butanol 획분을 제외한 물 추출물의 획분들과 ethanol 추출물의 수층분획은 0.5 ㎎/㎖의 농도로 투여시는 정상세포 생존율을 85% 이상으로 유지시켜 정상세포에 대한 안정성이 유지될 것으로 사료되나, Echinacea의 에탄올 추출물들의 획분들과 물 추출물의 butanol 획분의 경우 0.5 ㎎/㎖ 이상의 농도에서 정상세포의 생육이 20% 가까이 저해되었다. 그러나 비교적 높은 농도인 1.0 ㎎/㎖의 농도에서도 70% 이상의 세포 생존을 나타내었다.

암세포 생육억제 활성

각 추출물 및 분획물들의 암세포에 대한 생육억제활성은 Fig. 2와 3, Table 2에 나타낸 바와 같다. 유방암 세포주인 MCF7에 대한 생육억제 활성은 Fig 2와 같이 0.5 ㎎/㎖의 농도에서 물 추출물의 butanol 획분과 ethanol 추출물의 ethyl acetate 획분에서 각각 87%와 81%로 가장 높은 억제활성을 나타내었으며, 두 추출물의 butanol 획분에서 0.1 ㎎/㎖의 낮은 농도에서도 60%이사의 유의적인 세포 생육 억제능을 나타내었으며, 대부분의 추출물에서 농도의존적인 생육억제능을 나타내었다. 또한 정상세포의 생육억제능에 대한 암세포 생육억제능을 나타내는 selectibity에 있어서도 대부분의 경우 2.5 이상을 나타내어 암세포를 선택적으로 사멸시키는 것으로 나타났다. 인간 간암세포주인 Hep3B에 대한 생육억제능은 Fig. 3에 나타내었다. 물 추출물과 ethanol 추출물의 butanol 획분에서 0.5 ㎎/㎖의 농도에서 81%와 63%의 생육 억제능을 나타내었으며, 1.0 ㎎/㎖의 농도에서는 수층획분을 제외하고는 대부분 70% 이상의 높은 생육억제능을 나타내었다. 선택적 사멸도에 있어서도 수층분획을 제외하고는 2.5 이상을 나타내고 있으며, 농도가 증가할수록 세포의 생육억제능이 증가하는 것으로 확인되었다. 위암세포인 AGS와 폐암세포인 A549에 대한 생육억제능은 Table 2에 나타내었다. 위암세포인 AGS의 경우 물 추출물의 butanol 획분에서 0.5 ㎎/㎖의 농도에서 80%의 높은 억제율을 나타내었으며, 1.0 ㎎/㎖의 농도에서는 각 추출물의 수층 획분

과 ethanol 추출물의 ethyl acetate 획분을 제외하고는 80% 이상의 높은 생육억제 활성을 나타내었다. 폐암세포인 A549에 대한 생육억제능은 물과 ethaonl 추출물의 butanol 획분에서 1.0 ㎎/㎖의 농도에서 92%와 87%로 높게 나타났으며, 물추출물의 butahnol 획분의 경우 낮은 농도에서도 60%이상의 높은 생육억제능을 나타내었다. 이러한 암세포 생육억제능은 비특이적 방어 기전으로 암세포에 직접적으로 영향을 줄 뿐만 아니라 생체내에서는 대식세포나 림프구등의 표적세포에 대하여 세포독성효과를 나타내는 작동세포를 자극시켜 세포 독성 효과를 항진시킨다는 보고가 있다 (Fischer *et al.*, 1992). 이와 관련하여 Echinacea의 경우 cichoriic acid, polysaccharides, alkylamides등의 물질이 macrophage를 활성화 하고, TNF- 등의 cytokine의 분비를 증가시켜 항 종양효과를 나타내는 것으로 보고된 바 있으며 (Vinti *et al.*, 2002), NK cell 및 면역력의 증강에 관한 발표 (Susan 2000; Currier *et al.*, 2000)들이 보고되어 Currier 등은 노화 쥐에 alkamides를 투여한 결과 골수 및 비장에서 NK cell의 생성 및 자연살상능력이 증진됨을 보고하였다. 이외에 polysaccharides 또한 생체내의 complement system의 활성화와 항종양 효과의 상관관계가 있음이 보고되어졌다 (Okuda *et al.*, 1972). 차후로도 암예방에 효과가 있을 것으로 사료되어지는 Echinacea의 성분에 대한 규명이 요구된다.

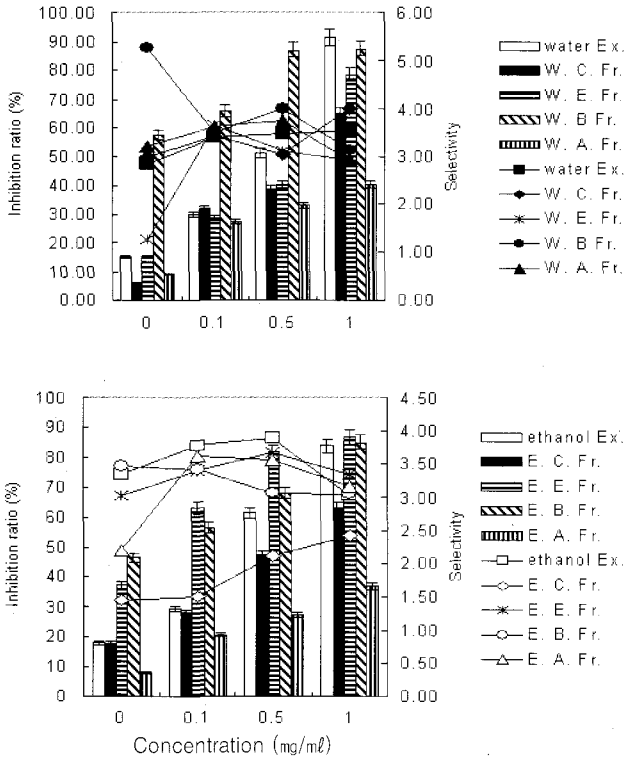

Fig. 2. Inhibitory effects of the extracts and fractions of *Ehinacea purpurea* on MCF7 growth(bar chart, %) and selectivity(scatter line) in adding (water Ex. : water extract, W. C. Fr. : chloroform fraction from water Ex., W. E. Fr. : ethyl acetate fraction from water Ex., W. B. Fr. : butanol fraction from water Ex., W. A. Fr. : aqueous fraction from water Ex., ethanol Ex. : ethanol extract, E. C. Fr. : chloroform fraction from EtOH Ex., E. E. Fr. : ethyl acetate fraction from EtOH Ex., E. B. Fr. : butanol fraction from EtOH Ex., E. A. Fr. : aqueous fraction from EtOH Ex.).

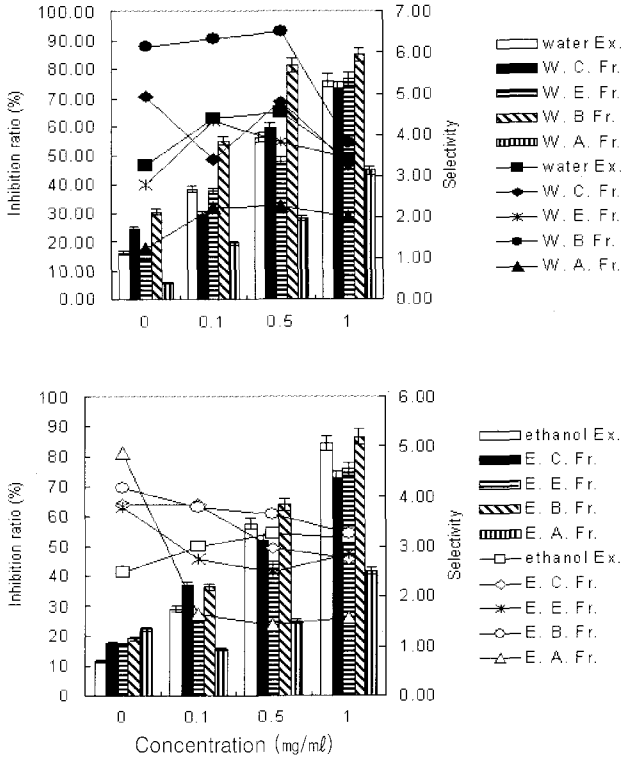

Fig. 3. Inhibitory effects of the extracts and fractions of *Ehinacea purpurea* on Hep3B (bar chart, %) and the selectivity(scatter line) in adding (water Ex. : water extract, W. C. Fr. : chloroform fraction from water Ex., W. E. Fr. : ethyl acetate fraction from water Ex., W. B. Fr. : butanol fraction from water Ex., W. A. Fr. : aqueous fraction from water Ex., ethanol Ex. : ethanol extract, E. C. Fr. : chloroform fraction from EtOH Ex., E. E. Fr. : ethyl acetate fraction from EtOH Ex., E. B. Fr. : butanol fraction from EtOH Ex., E. A. Fr. : aqueous fraction from EtOH Ex.).

Table 2. Comparison of the ratio inhibiting the growth of two different cancer cell lines of the extracts and fractions from *Echinacea purpurea*.

Sample	Concentration (㎎/㎖)	Inhibition ratio (%)		Selectivity	
		AGS	A549	AGS	A549
Water Ex.	0.05	14.34±0.43	13.59±0.41	2.68	2.54
	0.1	57.44±1.72	20.95±0.63	6.58	2.40
	0.5	68.01±2.04	63.35±1.90	4.63	4.77
	1.0	88.07±2.64	88.58±2.66	3.42	3.44
Chloroform fraction from water Ex.	0.05	19.60±0.59	19.95±0.60	3.92	3.99
	0.1	34.82±1.04	25.32±0.76	4.18	3.04
	0.5	58.12±1.74	46.92±1.41	4.36	3.52
	1.0	91.86±2.76	73.37±2.20	4.67	3.73
Ethyl acetate fraction from water Ex.	0.05	6.26±0.19	6.24±0.19	2.16	2.15
	0.1	19.98±0.60	19.89±0.60	2.66	2.64
	0.5	48.46±1.45	48.24±1.45	3.27	3.25
	1.0	81.33±2.44	80.96±2.43	2.81	2.8
Butanol fraction from water Ex.	0.05	43.11±1.29	61.56±1.85	3.96	5.65
	0.1	54.29±1.63	62.69±1.88	2.89	3.33
	0.5	80.29±2.41	78.48±2.35	3.67	3.58
	1.0	94.74±2.84	92.55±2.78	3.4	3.32
Aqueous fraction from water Ex.	0.05	7.18±0.22	16.98±0.51	1.45	3.43
	0.1	23.34±0.70	31.27±0.94	2.68	3.59
	0.5	30.38±0.91	25.27±0.76	2.44	2.03
	1.0	61.13±1.83	48.19±1.45	2.74	2.16
Ethanol Ex.	0.05	11.46±0.34	11.08±0.33	2.13	2.06
	0.1	16.48±0.49	19.48±0.58	2.14	2.53
	0.5	52.61±1.58	49.14±1.47	3.34	3.12
	1.0	79.47±2.38	74.49±2.23	2.87	2.69
Chloroform fraction from EtOH Ex.	0.05	35.32±1.06	41.15±1.23	2.87	3.34
	0.1	37.45±1.12	39.66±1.19	2.02	2.14
	0.5	45.36±1.36	58.70±1.76	2.03	2.63
	1.0	82.43±2.47	79.44±2.38	3.17	3.06
Ethyl acetate fraction from EtOH Ex.	0.05	7.52±0.23	12.56±0.38	1.64	2.74
	0.1	25.37±0.76	32.79±0.98	4.47	5.78
	0.5	60.55±1.82	79.13±2.37	5.18	6.78
	1.0	70.2 ±2.11	72.52±2.18	5.26	5.44
Butanol fraction from EtOH Ex.	0.05	43.07±1.29	44.49±1.33	3.23	3.34
	0.1	53.82±1.61	52.17±1.57	3.26	3.16
	0.5	61.89±1.86	87.71±2.63	2.77	3.93
	1.0	81.98±2.46	87.30±2.62	2.93	3.12
Aqueous fraction from EtOH Ex.	0.05	7.16±0.21	11.96±0.36	2.00	3.34
	0.1	18.70±0.56	21.43±0.64	3.30	3.78
	0.5	25.47±0.76	16.85±0.51	3.33	2.20
	1.0	33.05±0.99	31.65±0.95	2.83	2.71

적 요

Echinacea의 추출물 및 분획물들의 정상세포에 대한 세포독성을 측정한 결과, 0.5 ㎎/㎖이상의 농도에서 정상세포의 생육이 20% 가까이 저해되었으며, 비교적 높은 농도인 1.0 ㎎/㎖의 농도에서도 70% 이상의 세포 생존을 나타내었다. 유방암 세포주인 MCF7에 대한 생육억제 활성은 0.5 ㎎/㎖의 농도에서 물 추출물의 butanol 획분과 ethanol 추출물의 ethyl acetate 획분에서 각각 87%와 81%로 가장 높은 억제활성을 나타내었으며, 인간 간암세포주인 Hep3B에 대한 생육억제능은, 물과 ethanol 추출물의 butanol 획분에서 0.5 ㎎/㎖의 농도에서 81%와 63%의 생육 억제능을 나타내었으며, 1.0 ㎎/㎖의 농도에서는 수층획분을 제외하고는 대부분 70% 이상의 높은 생육억제능을 나타내었다. 위암세포인 AGS의 경우 물 추출물의 butanol 획분에서 0.5 ㎎/㎖의 농도에서 80%의 높은 억제율을 나타내었으며, 1.0 ㎎/㎖의 농도에서는 각 추출물의 수층 획분과 ethanol 추출물의 ethyl acetate 획분을 제외하고는 80% 이상의 높은 생육억제 활성을 나타내었다. 폐암세포인 A549에 대한 생육억제능은 물과 ethaonl 추출물의 butanol 획분에서 1.0 ㎎/㎖의 농도에서 92%와 87%로 높게 나타났다. 이전까지 Echinacea에 관해서 보고된 것은 그리 많지 않으며, 본 논문에서 Echinacea의 추출물 및 분획물들에 관해 실험한 내용에 관한 것은 전무한 것으로 사료되어져, 이용에 있어서 본 논문에서 실험한 결과를 바탕으로 Echinacea의 항암활성 효과를 통하여 앞으로의 이용에 다양하게 이용될 수 있음을 알린 것이며, 아울러 Echinacea의 추출물들을 이용시 본 눈문에서 실험한 결과 물인 물과 ethanol 추출물 모두 butanol 분획에서 그 효과가 가장 높았으므로 이를 사용한 다양한 암세포 사멸효과뿐만이 아니라 면역 활성 증진 및 여러 생리활성의 이용에 사용되도록 하여야 할 것이다.

사 사

이 논문은 2001년도 한국학술진흥재단의 지원에 의해 연구된 결과로 심심한 사의를 표합니다(KRF-2001-015-DP0482).

LITERATURE CITED

Bauer R, Juricic K, Puhlmann J, Wagner H (1988) Immunological *in vivo* and *in vitro* examinations of Echinacea extracts. Drug Res. 38:276-281.

Bauer R, Remiger P, Juricic K, Wagner H (1989) Influence of Echinacea extracts on phagocytotic activity. Z. Phytother. 10:43-48.

Currier NL, Miller SC (2000) Natural killer cells from aging mice trea-ted with extracts from *Echinacea purpurea* are quantitatively and functionally rejuvenated. Experimental Gerontology. 35:627-639.

Dorch W (1996) Clinical application of extracts of *Echinacea purpurea* or *Echinacea pallida*. Critical evaluation of controlled clinical studies. Z. Arztl. Fortbild. 90:117-122.

Doyle A., Griffiths JB, Newell DG (1993) Cell & Tissue culture: Laboratory procedures. Wiley.

Fischer SM, Leyton LJ, Lee ML, Loenislcar M, Belury MA, Maldve RE (1992) Differential effects of dietaty linoleic acid on mouse skin -tumor promotion and mammary carcinogenesis. Cancer Res. 52:2049-2056.

Foster S (1991) Echinacea: Naturea`s Immune Enhancer. Healing Arts Press.

Lee GY, Jee UK (1996) Cytotoxicity, stability and antitumor activity of 5-fluorouracil prodrugs entrapped in liposomes. Yakhak Hoeji. 40(5):522- 531.

Lee JK, Koo SJ (2002) Cytotoxic effects of methanol extract and fractions from *Echinacea angustifolia* on Cancer cells. Korean J. Food Sci. Technol. 34(1):123-127.

Lingchuan C, Armen HT (1999) Identification of distinct signalling pathways for somatostatin receptors SSTR1 and SSTR2 as revealed by microphysiometry. Cell. Signal. 11(7):499-505.

Masanori K, Hiroshi K (1997) Creation of *in vivo* and cytosensor using enginneered mesangial cells, Biol. Pharm. Bull, 22(3):1394-1399.

Micael CA, Domnic AS, Anne M (1988) Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. Cancer Res. 48:589-601.

Mourelle M. Murrel P, Favari L, Franco T (1989) Prevention of CCl_4-induced cirrhosis by silymarin. Fund. Clin. Pharmacol. 3:183-192.

Okuda T, Ikekawa Y, Chihara G, Nishioka K (1972) Anticomplementary activity of anti-tumor polysaccharides. Nature New Biol. 238:59-64.

Ryu SY, Choi SL, Lee CO, Lee SH, Ahn JW, Zee OP (199?). Antitumor activity of some phenolic components in plants. Arch. Pharm. Res. 17:42-??.

Salmi HA, Sarna S (1982) Effect of silymarin on chemical, functional, and morphological alteration of the liver. Scand. J. Gastroenterol. 17:517-521.

Susan S (2000) Use of Echinacea in Medicine. Biochemical Pharmacology. 60:155-158.

Vinti G, Chuck C, Slama JV, Barton R, Bauer R, Gahler R, Basu TK (2002) Alkylamides of *Echinacea purpurea* stimulate alveolar macrophage function in normal rats. International Immunopharmacology 2:381-387.