

## 파삼의 항암활성 증진이 가능한 고압 추출 공정

하지혜\* · 김 영\* · 김승섭\* · 정명훈\* · 정현상\*\*\* · 정재현\*\*\*\* · 유광원\*\*\*\* · 이현용\*\*\*\*†

\*강원대학교 BT특성화학부대학, \*\*강원대학교 생명공학연구소,  
\*\*\*충북대학교 식품공학과, \*\*\*\*충주대학교 식품생명공학과

### High Pressure Extraction Process of Low Quality Fresh Ginseng for Enhancing Anticancer Activities

Ji Hye Ha\*, Young Kim\*, Seung Seop Jeong\*, Myoung Hoon Jeong\*, Heon Sang Jeong\*\*\*, Jae Hyun Jeong\*\*\*\*, Kwang Wan Yu\*\*\*\*, and Hyeon Yong Lee\*\*\*\*†

\*College of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

\*\*Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

\*\*\*College of Agriculture, Life & Environment Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

\*\*\*\*Department of Food and Biotechnology, Chungju National University, Chungju 380-702, Korea

**ABSTRACT :** The low quality fresh ginseng was extracted by water at 80 °C and 240 bar for 20 min (HPE, High pressure extraction process). The cytotoxicity on human normal kidney cell (HEK293) and human normal lung cell (HEL299) of the extracts from HPE showed 28.43% and 21.78% lower than that from conventional water extraction at 100 °C in adding the maximum concentration of 1.0 mg/ml. The human breast carcinoma cell and lung adenocarcinoma cell growth were inhibited up to about 86%, in adding 1.0 mg/ml of extracts from HPE. This values were 9-12% higher than those from conventional water extraction. On *in vivo* experiment using ICR mice, the variation of body weight of mice group treated fresh ginseng extracts from HPE of 100 mg/kg/day concentration was very lower than control and other group. The extracts from HPE was showed longer survival times as 35.65% than that of the control group, and showed the highest tumor inhibition activities compared with other group, which were 70.64% on Sarcoma-180 solid tumor cells. On the high performance liquid chromatogram (HPLC), amount of ginsenoside-Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>, Rh<sub>1</sub> and Rh<sub>2</sub> on fresh ginseng were increased up to 43-183% by HPE, compared with conventional water extracts. These data indicate that HPE definitely plays an important role in effectively extracting ginsenoside, which could result in improving anticancer activities. It can be concluded that low quality fresh ginseng associated with this process has more biologically compound and better anticancer activities than that from normal extraction process.

**Key Words :** Low Quality Fresh Ginseng, High Pressure Extraction Process, Ginsenoside, Anticancer Activity

## 서 언

인삼 (*Panax ginseng* C.A. Mayer)은 수천 년간 사용되어진 대표적인 약용식물로서 오갈피나무과 (Araliaceae)에 속하는 다년생 초본류 (Park, 1996)이다. Triterpenoid saponins을 비롯한 polyacetylenes, phenolic compounds, polysaccharides, peptidoglycans 등의 성분을 함유하고 있으며, ginsenoside를 중심으로 많은 연구가 이루어지기 시작하여 면역 증강 (Kim *et al.*, 2008), 암세포 증식 및 전이 억제 작용 (Lee *et al.*, 1999; Oh and Lee, 2004), 항스트레스 (Kim *et al.*, 2003), 항산화 (Kim and Rhee, 2009), 기억 및 학습 능력 증진

(Lee *et al.*, 2008) 등의 여러 가지 약리작용이 과학적으로 입증됨에 따라 동양 한방 뿐 아니라 현대의학에서도 의약품 및 기능성 보조식품으로 그 수요가 증가하고 있다.

이러한 필요로 인해 인삼의 가공형태는 매우 다양하게 개발되고 있지만 그 동안 인삼에 대한 효능 연구는 대부분 홍삼 위주로 이루어져 왔으며, 수삼을 이용한 기능성 제품 개발 및 연구는 매우 미미한 실정이다. 인삼은 크게 수삼 및 1차 가공제품인 홍삼과 백삼으로 공급이 이루어진다. 하지만 채굴, 운반 및 관리 과정에서 부러지거나 상처를 입어 그 형태가 불완전하여 상품으로서 품질 요건에 부합하지 못하는 파삼은 홍삼 및 백삼으로 가공이 어렵기 때문에 지닌 약리적 효과에 비하

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr

Received 2009 September 18 / 1st Revised 2009 November 11 / 2nd Revised 2009 November 16 / Accepted 2009 December 8

여 저가에 공급되는 상태이다 (Yang, 1996).

본 연구에서는 이러한 상품성이 떨어지는 파삼을 대상으로 저온고압 기술을 도입하여 수삼 가공에 있어 기존의 추출 방법의 한계를 극복하고 홍삼 제조과정인 증숙을 통해 나타나는 생리활성 성분의 함량 및 조성의 변화를 재연하고자 하였다. 인삼의 주요 약리 활성 성분인 ginsenoside는 홍삼 제조과정 중 열처리와 가수분해 반응에 의해 화학성분의 구조적 변환이 일어나 암세포 증식 억제 활성 성분인 ginsenosides-Rh2, Rh4, Rs3, -Rs4, -Rg5과 같은 특유 성분이 생성되기도 하고 암세포 전이 억제 효과를 나타내는 ginsenoside-Rg3 등의 일부 생리활성 성분의 함량이 증가하는 것으로 알려져 있다. 이는 절대적 함량증가가 아닌 ginsenosides의 구조변환에 의한 증가로 G-Rb1등의 PD계 ginsenoside로부터 Rg3, Re는 Rg2 또는 G-Rh1으로 변환된다고 보고되는 바와 같이 실제적으로 이러한 홍삼제조 공정에 의해 ginsenosides의 함량의 증감이 일어난다고 할 수 있다. 본 연구에서 실시한 고압 (HPE, high pressure extraction process) 추출 공정은 80°C에서 240 bar의 고압을 사용하여 인삼 주요생리활성 성분인 ginsenoside의 변환 및 생성을 가능하게 하였으며, 추출 수율 및 생리활성 성분의 용출을 용이하게 하여 저가 파삼의 효능을 극대화 할 수 있도록 하였다.

항암화학요법은 악성 종양의 성장을 억제 또는 변형시킬 목적으로 약물을 사용하는 치료방법으로 이러한 화학요법은 약물의 독성 및 장기간의 반복적인 치료로 인한 DNA 손상 및 광범위한 세포괴사를 유발하며, 면역억제효과에 의한 면역 체계의 붕괴와 지속적인 투약이 인체의 약물 감수성을 저하시켜 지속적인 약효를 기대할 수 없을 뿐만 아니라 암세포에 대한 비선택적 작용으로 필연적으로 부작용이 따른다 (Son *et al.*, 2008; Han, 2008; Chang *et al.*, 2000). 또한 최근에는 위장 관암을 비롯한 많은 중앙세포가 형질 변형 세포의 apoptosis만을 유도하는 TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAL)에 대한 저항성을 획득하고 있는 것으로 보고 (Lee *et al.*, 2008) 됨에 따라 인체의 독성 및 내성이 낮고 기존 항암제의 효과를 증강시키거나 또는 표적암세포에 선택적으로 작용하는 항암물질에 대한 연구 (Yoon *et al.*, 2009)가 진행되어 왔으며 최근에는 이와 더불어 암세포의 증식을 억제하거나 정상세포로 분화를 유도하는 항암소재 연구 (Choi *et al.*, 2008)가 진행되고 있다. 식품과 천연물 중 암의 발생을 억제 또는 지연하거나 항암보조기능 성분들이 다수 포함되어 있는 것으로 알려짐에 따라 (Jin *et al.*, 2008; Kwak *et al.*, 2007) 지속적이고 고농도 섭취가 가능한 항암제 및 항암보조제로서 식품 소재는 항암요법에 있어 항암제를 개발하는 것 이상의 의미를 둘 수 있다. 이러한 맥락에서 암세포 증식억제 (Xu *et al.*, 2007)와 형태적 기능적 정상세포로의 분화유도, apoptosis 유도 및 항암제의 내성 억제 (Choi *et al.*, 2003)와 동시에 항암활성을 증

대 (Jia *et al.*, 2004) 시키는 것으로 알려진 인삼성분들은 탁월한 항암소재로서 본 연구는 저가 파삼으로부터 이러한 항암 효과를 극대화 시킬 수 있는 고압 공정을 적용하여 기능성 및 상품성을 높여 항암 소재로서의 부가가치를 극대화 하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 추출방법

본 실험에 사용한 수삼은 음성 인삼연구소에서 지원받아 사용하였다. 저온고압 추출은 고압 추출장치 (Ilsin autoclave, Korea)를 이용하여 80°C, 240 bar에서 20분간 저온고압 추출을 시행한 후 수직 환류 냉각기가 부착된 추출 플라스크에 시료 중량의 10배수 증류수를 용매로 사용하여 80°C에서 60분 추출을 3회 반복하였다. 본 연구에서 대조군으로 설정한 열수 추출은 별도의 고압 추출 공정 없이 동일한 비율의 시료와 용매를 수직 환류 냉각기가 부착된 추출 플라스크에 넣고 100°C에서 60분간 3회 반복하여 추출하였다. 상기와 추출공정으로부터 얻어진 추출물들은 감압여과한 후 회전 감압 농축기 (Rotary vacuum evaporator N-N series, Eyela, Tokyo, Japan)를 사용하여 시료 각각의 추출 온도와 동일한 온도에서 감압 농축하였으며 동결건조를 통해 용매를 완전히 제거한 파우더 상태의 추출물을 실험에 사용하였다.

### 2. 시약

본 연구의 세포배양 시 사용되는 RPMI 1640 (Roswell park memorial institute medium)배지와 FBS (fetal bovine serum)은 GIBCO (USA)로부터 구입하였으며, hepes buffer, gentamycin sulfate, Trypsin-EDTA는 SIGMA (USA)에서 구입하여 사용하였다. ginsenoside 분석에 사용한 standard는 아름사이언스 (Korea)로부터 구입하여 사용하였다.

### 3. 세포주 및 실험 동물

정상세포에 대한 독성은 인간 신장 세포인 HEK293 (Human embryonic kidney cell)와 HEL299 (Human embryonic lung cell)를 통해 측정하였으며, 세포수준의 항암활성을 평가하기 위해 인간 유래 유방암 세포인 MCF-7 (Human breast adenocarcinoma, ATTC, USA), 폐암 세포인 A549 (Human lung carcinoma, ATTC, USA)와 간암 세포인 Hep3B (Human hepatoma carcinoma, ATTC, USA)를 이용하였다. 상기의 인간 전과립 세포의 배양은 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건하에서 10% heating inactivated FBS를 포함한 RPMI1640 배지를 이용하여 4~5 세대 계대 배양 후 실험에 사용하였다. *In vivo* 실험에 사용된 실험동물은 오리엔트바이오 (Korea)로부터 4주령의 ICR (Female, 22~24 g) 마우스를

구입하여 온도 20~25°C, 습도 55 ± 10%가 유지 가능한 사육실에서 일주일간 안정기를 취한 후 사용하였다. 12시간 간격으로 점등 하였으며, 멸균된 고형 사료와 식수를 자유 급식하였다. 실험에 사용된 암세포주는 Sarcoma-180 (ATCC: CCL 8, USA)로 mouse 복강내에서 6~7일 간격으로 계대배양하여 사용하였다.

#### 4. 수삼의 Ginsenoside 분석

각각의 추출 공정을 통하여 얻어진 파삼의 ginsenoside 성분을 HPLC (high performance liquid chromatography)를 이용하여 분석하였다. HPLC 분석을 위해 시료를 수포화 부탄올 추출법을 통해 전처리한 후 methanol에 충분히 용해시켜 0.45 µm filter로 여과한 다음 시료 주입량을 20 µl로 하여 ginsenoside를 분석하였다. ginsenoside 분석에 사용된 HPLC는 Alltech Binary Gradient HPLC system model 627 (Alltech associateds, Inc., USA)이며, column은 Prevail carbohydrate ES 5u, 250 × 4.6 mm, detector는 ELSD 2000ES (203 nm)을 사용하였다. 이동상으로는 acetonitrile, water, isopropylalcohol를 사용하여 solvent A는 acetonitrile: Water: isopropylalcohol을 80:5:15로 solvent B는 67:21:12의 비율로 solvent B의 비율을 10%, 85%, 80%, 75%, 90%, 100%, 25% 그리고 10%로 순차적으로 조절하여 전개를 진행하였으며, 0.8 ml/min의 유속으로 흘러주었다 (Han *et al.*, 2005).

#### 5. 수삼 추출물의 정상세포 독성 및 항암활성 측정

인간 신장 세포 HEK293와 인간 유래 암세포주인 AGS, A549 그리고 Hep3B를 이용하여 SRB (sulforhodamine B) assay (Doll and Peto, 1983)를 통해 각각 추출공정을 통한 수삼의 세포독성 및 암세포 생육억제 활성을 측정하였다. SRB assay는 세포의 단백질 염색을 통해 세포 증식 및 독성 정도를 평가하는 방법으로 실험에 앞서 상기 세포의 농도를 4~5 × 10<sup>4</sup> cells/ml 가 되도록 조절하여 96 well plate의 각 well에 100 µl 씩 분주한 후 24시간 동안 배양 (37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator)하였다. 각각의 시료의 최종 농도를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml로 조절하여 각각 100 µl 씩 첨가한 후 48시간 배양하였다. 상등액을 제거하고 4°C, 10% (w/v) TCA (trichloroacetic acid) 100 µl을 가하여 4°C에서 1시간 동안 정지한 후 증류수로 5회 세척하여 TCA를 제거하고 실온 건조하였다. 건조된 plate의 각 well에 1% (v/v) acetic acid로 녹인 0.4% (w/v) SRB 용액을 100 µl 씩 첨가하여 상온에서 30분 동안 염색시킨 후 결합되지 않은 SRB 염색액 제거를 위해 1% acetic acid로 4~5회 세척한다. 실온에서 완전히 건조한 후 10 mM Tris buffer 100 µl 를 첨가하여 염색액을 녹여낸 후 540 nm 에서 microplate reader (Molecular Devices, USA)

를 이용하여 흡광도를 측정하여 정상세포에 대한 독성 및 암세포에 대한 생육억제 활성을 계산하고, 각각의 시료 농도에서 정상세포에 대한 세포독성에 대한 암세포 생육 억제 활성비를 Selectivity로 나타내었다.

$$Selectivity = \frac{\text{암세포 생육억제 활성}}{\text{정상세포의 세포 독성}}$$

#### 6. Sarcoma-180 복수암 및 고형암에 대한 in vivo 항암 효과 측정

Sarcoma-180 세포를 10% heating inactivated FBS를 함유한 RPMI 1640의 기본 배지에서 배양하였다. 0.25% trypsin-EDTA로 배양 flask로부터 분리한 후 2 × 10<sup>6</sup> cells/mouse의 농도로 조절하여 200 µl 를 mouse 복강에 1 ml syringe를 이용하여 피하이식 하였다. 상기의 방법으로 mouse 복강 내에서 6~7일 간격으로 계대배양을 통해 보존된 sarcoma-180 세포를 취하여 복수암 실험군 mouse의 복강과 고형암 실험군 mouse의 왼쪽 대퇴부 근육에 200 µl 씩 피하이식 하였다. 종양세포 이식 후 21일 동안 1일 투여량 0.5 ml, 최종 농도를 50, 100 mg/kg로 조절한 각각의 시료를 경구투여 하였다. 실험군은 암을 유발시키지 않고 사료만 먹인 group (negative control group), 암 유발 후 사료만 먹인 group (positive control group), 암을 유발시킨 후 시료를 투여한 group (treated samples group)으로 분리하여 실험을 수행하였다. 30일간 3일 간격으로 복수암 유발 mouse의 체중을 측정하였고 생존율 (survival rate)을 측정하였으며, 고형암 유발 mouse에서 종양 세포이식 30일 후 경추 탈골법을 통해 치사 후 고형암과 비장 및 간의 무게를 측정하여 체중에 대한 장기의 중량을 측정하였다 (Kim *et al.*, 2007).

$$Survival\ rate\ (\%) = \frac{S - C}{C} \times 100$$

S: Mean survival days of treated mouse

C: Mean survival days of control mouse

$$Tumor\ growth\ inhibition\ ratio\ (\%) = \frac{C - S}{C} \times 100$$

C: The average tumor weight of control / The average body weight of control

S: The average tumor weight of treated group / The average body weight of treated group

#### 7. 통계처리

본 연구에서 실험값의 통계는 SPSS package program (ver.12.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)의 paired t-test로

**Table 1.** The yield of low quality fresh ginseng according to different extraction processes.

Sample	Condition of extraction			Yield (% w/w)
	Pressure	Solvent/Temp	Holding time	
WE <sup>†</sup>	–	water/100°C	180 min	29.96 ± 2.40
HPE <sup>‡</sup>	240 bar	water/80°C	20 min	37.23 ± 2.98

<sup>†</sup>Water Extracts at 100°C, control.

<sup>‡</sup>Water Extracts at 80°C after high pressure process at 240 bar, 80°C for 20 min.

검정하였으며 모든 실험값은 평균 ± 표준오차 (Mean ± standard error)로 나타내었다.

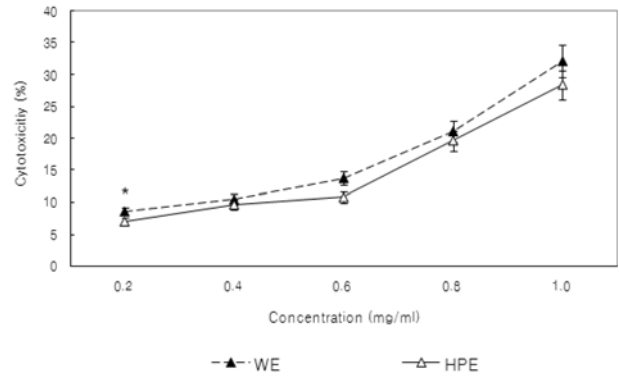
## 결과 및 고찰

### 1. 추출 공정에 따른 수삼 추출물의 수율

저가 수삼 추출물을 기능성 식품 및 의약품 가공에 이용하기 위해서 수삼의 유용 생리활성을 향상시키는 동시에 유효성분을 포함한 수삼의 추출 수율의 증가가 일차적으로 이루어져야 한다. Table 1에 나타낸바와 같이 고압 공정을 통한 추출물이 일반 열수 추출물에 비해 약 7.27% 증가한 37.23%의 수율을 나타내며 수율 증진 면에서 효율이 있음을 확인할 수 있었다. 통상적인 열수 추출물에 비해 고압공정을 통한 수삼의 추출물의 수율이 증가한 것은 수삼에 함유된 섬유소 및 전분이 고압 공정을 통해 저분자화 되어 수용성 물질 또는 사포닌 등의 인삼 성분 추출이 용이하게 이루어짐에 기인하는 것으로, 이는 고압 공정이 치밀한 결합을 이루고 있는 조직을 느슨하게 함으로써 표면적을 증가시켜 용매와의 이온 교환력과 용해도가 향상되어 유효 성분의 확산력이 높아지고 수용성 성분의 용출이 용이해 짐에 따라 결과적으로 수삼의 유효성분을 비롯한 추출 수율이 증가하는 것으로 사료된다 (Han and Jeong, 2005; Joeng *et al.*, 2009).

### 2. 정상세포 독성 측정

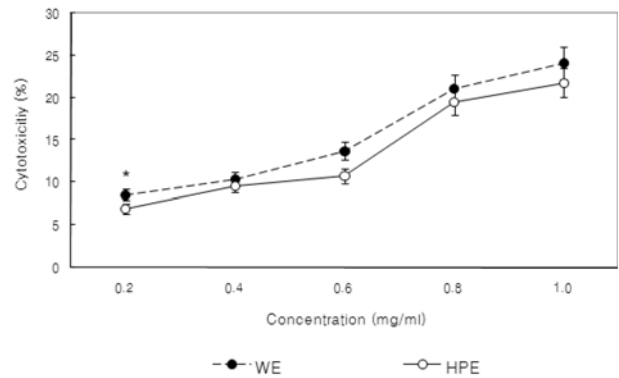
Fig. 1은 수삼의 인간 신장 정상 세포인 HEK293에 대한 세포독성 측정 결과로 수삼 열수 추출물이 0.8 mg/ml 이상의 농도에서 유의적인 독성 증가를 보이며, 최고농도인 1.0 mg/ml에서 32.09%의 가장 높은 세포독성을 나타내었으며 이에 비해 수삼 고압 추출물은 28.43%의 세포독성을 나타내었다. 또한 인간 간 정상 세포인 HEL299에 대한 세포독성 측정 결과 (Fig. 2) 수삼 고압 추출물이 1.0 mg/ml의 농도에서 21.78%의 세포독성을 나타내었으며, 모든 농도에서 열수 추출물에 비해 낮은 독성을 확인할 수 있었다. 수삼 고압 추출물은 상기 두 가지의 인간 정상세포에 대해 모두 70% 이상의 세포 생존율을 유지시켜 시료 자체에 대한 독성을 나타내지 않으며 정상 세포에 대한 안전성을 유지하는 것을 확인할 수 있었으며, 일반 열수 추출물에 비해 낮은 세포독성을 나타내는 것으로 미



**Fig. 1.** Cytotoxicity of the low quality fresh ginseng extracts treated with different process on human normal cell line, HEK293.

<sup>†</sup>WE: extracts by water extraction, HPE: extracts by high pressure extraction process

Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at  $P < 0.05$ .

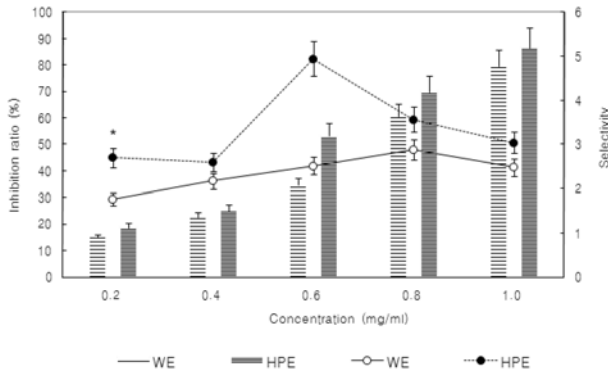


**Fig. 2.** Cytotoxicity of the low quality fresh ginseng extracts treated with different process on human normal cell line, HEL299.

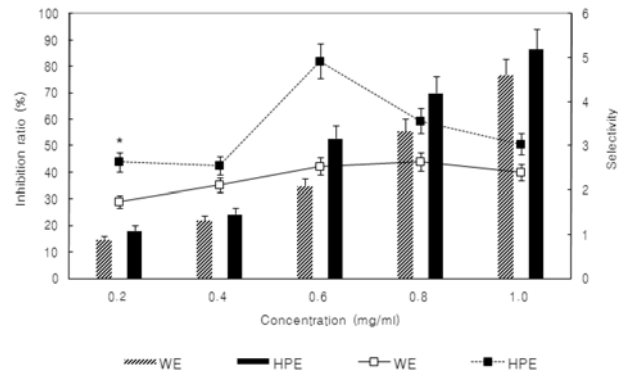
<sup>†</sup>WE: extracts by water extraction, HPE: extracts by high pressure extraction process

Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at  $P < 0.05$ .

루어 보아 고압 공정을 통해 추출 수율의 증진뿐만 아니라 세포독성 저감을 가능하게 하여 암세포에 대한 선택적 사멸이



**Fig. 3.** Inhibitory effects(bar chart) of the low quality fresh ginseng extracts treated with different extraction process on the human Breast adenocarcinoma cell(MCF-7) and its selectivity(line chart).  
 \*WE: extracts by water extraction, HPE: extracts by high pressure extraction process  
 \*Results are expressed as mean  $\pm$  S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at  $P < 0.05$ .



**Fig. 4.** Inhibitory effects(bar chart) of the low quality fresh ginseng extracts treated with different extraction process on the human lung carcivoma cell(A549) and its selectivity(line chart).  
 \*WE: extracts by water extraction, HPE: extracts by high pressure extraction process  
 \*Results are expressed as mean  $\pm$  S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at  $P < 0.05$ .

가능할 것으로 생각되며 결과적으로 항암활성을 갖는 기능성 소재로서의 이용 가능성을 확인할 수 있었다.

**3. In vitro 항암활성 측정**

MCF-7, A549 그리고 Hep3B를 이용하여 일반 열수 추출과 고압 공정을 통한 수삼의 추출물 첨가에 따른 순환기, 호흡기, 소화기계 암세포 대한 항암활성을 측정하였다.

대표적인 순환기계 암 중 하나인 인간 유래 유방암 세포 MCF-7에 대하여 항암활성을 측정 결과 (Fig. 3), 수삼 고압 추출물이 0.6 mg/ml 이상의 농도에서 암세포 생육저해 활성이 유의적으로 증가하여 최고농도 1.0 mg/ml에서 86.52%의 가장 높은 활성을 나타내었다. 이는 동일 농도에서 일반 열수 추출물이 나타낸 79.52%에 비해 높은 활성이며, 일반 열수 추출물이 0.8 mg/ml의 농도에서 2.88의 가장 높은 selectivity를 나타낸 것과 비교하였을 때 동일 농도에서 3.56의 selectivity를 나타내었고 그 보다 낮은 0.6 mg/ml의 농도에서 4.96의 높은 selectivity를 나타낸 것으로 미루어 보아 선택적인 암세포 저해에 효과적인 활성을 확인할 수 있었다. 유방암은 대표적인 악성종양으로서 유방조직의 여성 호르몬에 대한 노출 정도가 발병에 가장 큰 요인으로 알려져 있으나, 그 외 식이관련 요인이 유방암 발생에 높은 관련성이 있다고 보고되고 있으며 (Lee et al., 2008), 또한 보조적인 화학 요법이 유방암 치료율을 높인다고 알려져 있다. 앞으로의 항암 화학요법 방향이 최소한의 부작용으로 최대한의 효과를 볼 수 있는 방향으로 진행되며 또한 인삼 추출물이 MCF-7과 MDA-MB0-231 유방암 세포 주에서 암 억제 유전자인 p21의 발현을 증가시켜 유방암 세포의 증식을 억제하는 기전에 중요한 역할을 한다는 연

구가 보고 (Kang and Duda, 1999)된 것으로 미루어 보아 수삼 고압 추출물이 보조적인 항암 치료에 효과적인 항암 소재로서의 역할을 수행할 것으로 사료된다.

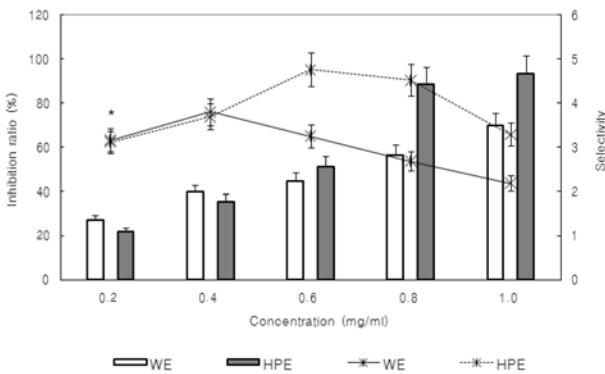
Fig. 4는 인간 폐암 세포주인 A549에 대한 추출물의 항암활성을 나타낸 것으로 모든 추출물이 높은 암세포 저해 활성을 나타내었다. 수삼 열수 추출물이 최고농도인 1.0 mg/ml에서 76.86%의 비교적 높은 암세포 생육저해 활성을 나타내었으며, 고압 추출물이 동일 농도에서 86.44%의 가장 높은 암세포 생육저해 활성을 나타내었다. 또한 고압 추출물은 0.6 mg/ml 농도에서 4.92의 높은 selectivity를 나타내며 0.6 mg/ml 이상의 농도에서 2.5 이상의 selectivity를 나타낸 수삼 추출물에 비교하여 효과적인 암세포 생육저해 활성을 나타내었다. 기존의 폐암 치료를 위한 화학적 항암제를 이용한 치료성적의 향상은 한계점에 도달하였으며, gemcitabine/cisplatin, paclitaxel/cisplatin, docetaxel/cisplatin 등의 기존의 사용되는 항암제의 치료성적은 거의 동일하다고 보고된 바가 있다 (Schiller et al., 2002). 또한 순환기계 암인 폐암의 경우 전 세계적으로 가장 높은 사망률을 나타내며 다른 기계의 암에 비해 예후가 좋지 않고 폐암 환자의 절반 이상이 70세 이상의 노인으로서 여러 장기의 기능이 저하된 상태에서 항암제의 독성 및 여러 부작용을 무시할 수 없으므로 앞으로 보다 새로운 항암 소재 개발을 통한 기능성 항암 보조제 및 치료제의 도입이 필수적이다 (Yun, 2009). 이에 고압 공정을 통한 수삼 추출물은 최고 4.92의 높은 selectivity를 나타내며 정상세포에 대한 독성에 비해 선택적으로 암세포 생육을 저해활성을 나타내어 효과적인 항암활성을 나타냄에 따라 기능성 항암 소재로서 식품 및 의약품으로 개발 시 폐암 환자에게 보다 효과적이고 안전

한 치료의 기회를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

Fig. 5에 나타난 바와 같이 소화기 계통의 암인 간암 세포에 대해 수삼 고압 추출물은 매우 효과적인 항암활성을 나타내었다. 수삼 일반 열수 추출물이 최고농도 1.0 mg/ml에서 70%의 암세포 생육 저해 활성을 나타내며, 비교적 낮은 농도에서 높은 selectivity를 나타내며 양호한 항암활성을 나타내었지만 0.8 mg/ml 이상의 농도에서 암세포에 비교하여 안정적인 정상세포 생육을 유지하지 못하여 selectivity가 감소하는 경향을 나타내었다. 이에 비해 수삼 고압 추출물은 0.8 mg/ml 이상의 농도에서 암세포 생육저해 활성이 급격히 증가하여 최고농도인 1.0 mg/ml의 농도에서 93.42%의 매우 높은 정도의 암세포 생육저해 활성을 나타내었다. 또한 모든 농도에서 3이상의 selectivity를 유지하였으며 0.6, 0.8 mg/ml의 농도에서 4.5 이상의 양호한 암세포 선택적 사멸률을 나타내어 고압 공정을 통한 수삼 추출물의 효과적인 항암활성을 확인할 수 있었다. 간세포암은 다른 종양과는 달리 종양인자 이외에 잔존 간기능, 환자의 활력증후상태 및 치료방법 등이 생존에 영향을 미치는

중요한 인자로 (Jang, 2008) 항암 기능성 식품 및 항암 보조제로서 수삼 고압 추출물의 활용가치가 높다고 할 수 있다. 또한 기존의 연구에서 간종양세포주인 HepG2에서 HMG CoA reductase 억제효과를 나타냄으로서 간기능 장애환자에게 대체 약물로서 인삼 사포닌성분 성분의 사용가능성을 보고 (Noh *et al.*, 1996)되었으며, 홍삼 추출물이 간 지질대사 및 간 기능을 증진에 효과적이라는 연구 (Song *et al.*, 2008)를 통해 고압 추출을 통해 유효 성분 및 항암 활성이 증진된 수삼 추출물이 간 기능 증진 및 간암에 대한 항암 소재로서 높은 가치를 갖을 수 있을 것이라 사료된다.

각 인간 각 기관별 암세포를 이용하여 항암활성을 평가한 결과 전반적으로 고농도에서 수삼 추출물이 높은 암세포 생육저해 활성을 갖으며, 수삼 일반 추출물에 비해 고압 추출물이 낮은 농도에서 높은 selectivity를 나타내며 고압 공정을 통해 수삼의 항암 활성이 증진되는 것을 확인할 수 있었다. Table 2는 높은 항암활성을 나타내는 농도에서 각 기관 계통의 암세포별 수삼 추출물이 미치는 항암 효과를 비교한 것으로, 고압 추출물이 0.6과 0.8 mg/ml에서 3.57~4.95의 일반 열수 추출물에 비해 월등히 높은 selectivity를 나타내었으며, 특히 소화기 계통의 암인 인간 간암세포에서 전반적으로 높은 항암활성을 나타내었다. 소화기계 암에서 외과적인 수술 후 장기간의 홍삼 투여가 면역 기능향진에 영향을 주며 (Suh *et al.*, 1998), 항암화학요법과 병행하여 투여할 경우 숙주의 화학약물에 의한 면역 억제를 빠른 시간 내에 회복시키며 면역력 회복을 촉진시킨다는 연구 결과 (Suh *et al.*, 2004)를 미루어 보아 고압 공정을 통한 수삼 추출물의 소화기계 암 또는 특정 암에 대한 항암활성에 대해 심도 있는 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.



**Fig. 5.** Inhibitory effects (bar chart) of the low quality fresh ginseng extracts treated with different extraction process on the human hepatocellular carcinoma cell (HEP3B) and its selectivity (line chart).

<sup>†</sup>WE: extracts by water extraction, HPE: extracts by high pressure extraction process

Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at  $P < 0.05$ .

### 5. Sarcoma-180 복수암 및 고형암에 대한 *in vivo* 항암활성 측정

Table 3의 체중 측정결과는 복수암 유발에 따른 복수 형성을 확인하기 위한 지표로 이용하였으며, 대조군을 포함한 모든 실험군이 최장 30까지 생존하였기 때문에 Sarcoma-180을

**Table 2.** Comparison of inhibitory effects of the low quality fresh ginseng extracts treated with different extraction process on the human cancer cell line and selectivity, 0.6 mg/ml concentration.

Cell line		MCF-7		A549		Hep3B	
Conc. (mg/ml)	Sample	Inhibition ratio (%)	Selectivity	Inhibition ratio (%)	Selectivity	Inhibition ratio (%)	Selectivity
0.6	WE <sup>†</sup>	34.53 ± 1.73*	2.51 ± 0.88	34.87 ± 1.74	2.54 ± 0.89	44.66 ± 2.23	3.25 ± 0.11
	HPE	53.14 ± 2.66	4.95 ± 0.17	52.86 ± 2.64	4.92 ± 0.17	51.18 ± 2.56	4.76 ± 0.17
0.8	WE	60.63 ± 3.03	2.88 ± 0.10	55.61 ± 2.78	2.64 ± 0.09	56.50 ± 2.83	2.68 ± 0.93
	HPE	69.79 ± 3.49	3.56 ± 0.12	69.91 ± 3.50	3.57 ± 0.12	88.63 ± 4.43	4.52 ± 0.16

<sup>†</sup>WE: extracts by water extraction, HPE: extracts by high pressure extraction process

\*Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at  $P < 0.05$ .

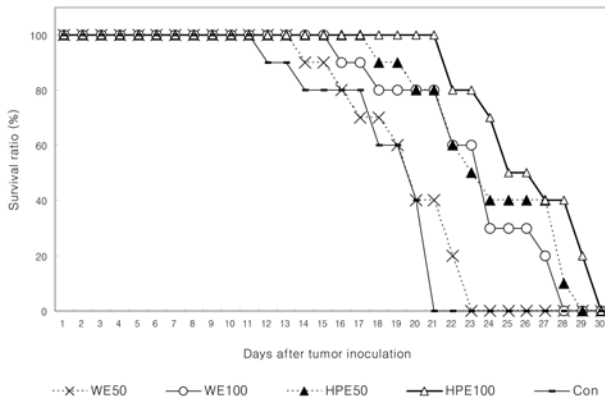
**Table 3.** Effect of intraperitoneal administration of low quality fresh ginseng extracted by different processes on the growth of Sarcoma-180 inoculated intraperitoneally to ICR mice.

Group	Sample Conc. (mg/ml)	Body weight (g)	Period of alive (days)	Survival rate† (%)
NC‡	non treated	26.1 ± 1.9*	-	-
PC		41.7 ± 4.2	16.3 ± 2.5	-
WE	50	34.3 ± 3.3	20.2 ± 4.0	23.93 ± 2.45
	100	35.2 ± 3.8	22.2 ± 3.5	36.20 ± 3.37
HPE	50	35.4 ± 2.6	21.8 ± 3.5	33.74 ± 2.76
	100	31.2 ± 3.2	26.0 ± 3.0	59.51 ± 2.45

†Survival days of treated mouse-survival days of control mouse/survival days of control mouse × 100

‡NC: negative control, PC: Positive control, WE: extracts by water extraction, HPE: extracts by high pressure extraction process

\*Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at P < 0.05.



**Fig. 6.** Effect of survival ratio of the low quality fresh ginseng extracts treated with different extraction process on the growth of Sarcoma-180 inoculated intraperitoneally.

WE50: water extracts of 50 mg/kg concentration, WE100: water extracts of 100 mg/kg concentration, HPE50: extracts by high pressure extraction process of 50 mg/kg concentration, HPE100: extracts by high pressure extraction process of 100 mg/kg concentration, Con: non treated sample.

복강 내에 투여한 후 실험 30일까지 복수암이 유발된 마우스 수명을 측정하여 수명률을 Fig. 6에 나타내었다. 복수암이 유발된 마우스에 수삼 추출물을 경구 투여한 WE50, WE100, HPE50 그리고 HPE100군과 대조군은 모두 Sarcoma-180을 이식한 후 7일부터 체중이 유의적으로 (P < 0.05) 증가하기 시작하여 최종 체중이 정상군은 약 26.1 g인데 비하여 대조군은 약 41.7 g으로 나타나 정상군보다 약 1.6배 체중이 증가하였으며, 수삼 열수 추출물을 투여한 WE50과 WE100군은 34.3 g, 35.2 g으로 정상군과 비교하여 약 1.31~1.35배 증가하는 경향을 보였다. 또한 HPE50군은 1.36배, HPE100군은 1.20배 증가치를 보여 수삼 고압 추출물을 투여한 실험군에서 더 낮은 체중 증가율을 확인할 수 있었다. Sarcoma-180 세포주는 마우스 복강 내의 복수를 증가시켜 체중을 증가시키는데 상기 실험 결과에서 확인할 수 있듯 수삼 고압 추출물 투여 실험군

에서 대조군 및 수삼 일반 열수 추출물 투여 실험군에 비해 체중 증가폭이 더 적은 것은 수삼 고압 추출물에 의한 마우스 복강 내의 암세포 증식 억제 결과에 따라 복수암의 성장이 저해되었기 때문인 것으로 사료된다.

Sarcoma-180를 마우스 복강에 투여한 후 30일까지 마우스의 수명기간을 측정된 결과 대조군에서 12~20일 사이에 복수암에 의해 생존 수 감소가 나타났으며, 체중증가폭이 가장 낮았던 HPE100군에서 22~29일 내에 생존 수가 감소하는 결과를 나타내어 생존일수가 대조군 보다 60% 지연되는 결과를 확인할 수 있었다. WE50, WE100군의 평균 수명일수는 대조군에 비하여 각각 24%와 36%로 유의하게 수명이 연장되었다 (P < 0.05). 상기의 결과를 통해 수삼 고압 추출물이 복수암이 유발된 마우스의 수명을 효과적으로 연장시키는 것을 확인할 수 있었으며 생존 일수 측정을 통해 복수암 유발에서 기인하여 마우스 복강 내에 복수가 차면서 급격히 증가되는 체중변화가 마우스의 수명 에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 천연물에서 20~30% 이상 생명연장효과를 보일 경우, 통계적으로 유의성 있는 항암효과로 인정된다는 기존의 보고 (Kim et al., 1994)를 통해 수삼 고압 추출물이 암세포 증식 억제 효과를 나타내며 효과적인 항암활성을 갖는 소재로서 향후 항암소재로서 높은 부가가치를 가질 수 있을 것으로 사료된다.

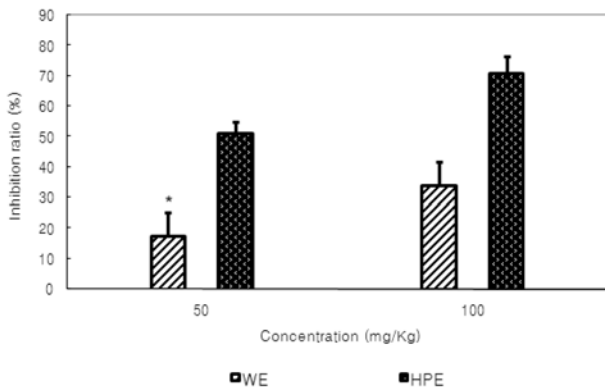
고형암이 유발된 마우스에서 고압 공정을 적용한 수삼 추출물의 고형암 성장 억제효과 및 장기에 미치는 영향을 알아보고자 종양세포 이식 30 후 고형암 및 장기의 무게를 측정된 결과를 Table 4에 나타내었다. 대조군에 비해 실험군의 체중은 증가하였으나 고형암 무게에 비례하지는 않는 것으로 나타났다. 비장과 간의 무게를 측정된 결과 간의 무게는 유의적인 차이를 확인할 수 없었고 시료를 투여한 실험군에서 비장의 무게가 감소하는 결과를 확인할 수 있었다. 대조군의 고형암 무게는 13.39 g인데 반해 WE50군과 HPE50군은 각 10.52 g, 6.67 g이며 WE100군과 HPE100군이 각 10.52 g, 4.34 g으로 추출물의 투여 농도에 의존적으로 고형암의 성장이 억제되

**Table 4.** Effect of low quality fresh ginseng extracted by different processes on the liver, spleen and tumor of ICR mice after 30 days. (g)

Group	Sample Conc. (mg/kg)	Body	Liver	Spleen	Tumor
NC <sup>†</sup>	non treated	26.1 ± 0.05*	1.26 ± 0.02	0.17 ± 0.05	—
PC		31.58 ± 1.20	1.92 ± 0.10	0.45 ± 0.02	13.39 ± 3.35
WE	50	29.42 ± 0.01	1.79 ± 0.27	0.41 ± 0.01	10.52 ± 2.10
	100	31.45 ± 0.07	1.87 ± 0.09	0.42 ± 0.02	8.79 ± 1.76
HPE	50	32.32 ± 0.52	1.92 ± 0.48	0.33 ± 0.02	6.67 ± 1.00
	100	34.34 ± 0.61	1.85 ± 0.13	0.41 ± 0.02	4.34 ± 1.30

<sup>†</sup>NC: negative control, PC: Positive control, WE: extracts by water extraction, HPE: extracts by high pressure extraction process

\*Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at  $P < 0.05$ .



**Fig. 7.** Effect of low quality fresh ginseng extracted by different processes on the tumor growth inhibitor rate of ICR mice with Sarcoma-180 cells after 30 days.

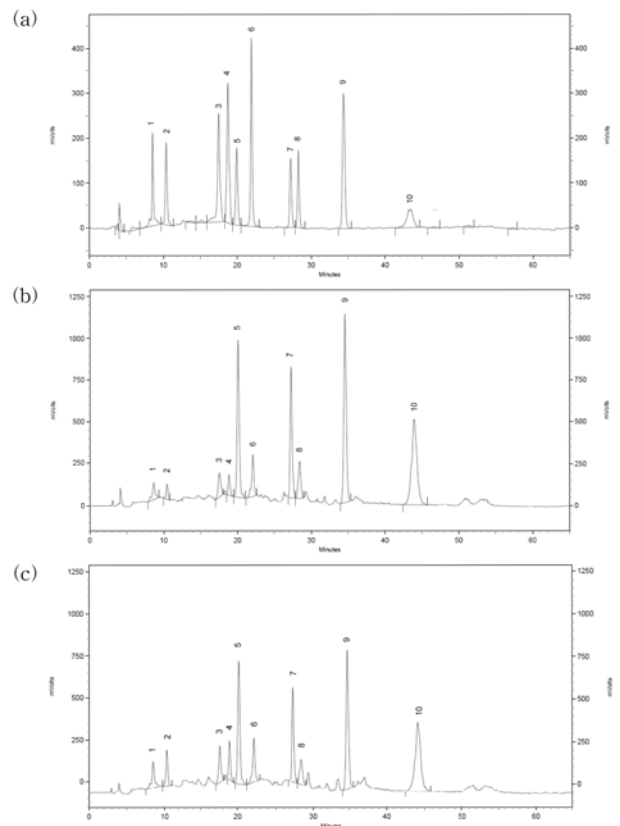
WE: extracts by water extraction, HPE: extracts by high pressure extraction process

Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. Each values were compared with control at  $P < 0.05$ .

며 고압 추출물을 투여한 실험군에서 고형암의 무게는 더 감소하는 결과를 나타냄에 따라 이는 고압 공정을 통해 수삼의 종양세포 증식억제에 관여하는 생리활성 성분이 증진되었을 것이라 사료된다.

### 6. HPLC를 통한 수삼 추출물의 ginsenoside 분석

본 연구에서 분석한 ginsenoside는 protopanaxadiol (PPD) 계열의 ginsenoside인 Re, Rf, Rg<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rh<sub>1</sub>와 protopanaxatriol (PPT) 계열의 ginsenoside인 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd, Rg<sub>3</sub>, Rh<sub>2</sub> 모두 총 12종으로 수삼의 추출조건에 따른 개별 ginsenoside의 함량 분포를 비교하여 Fig. 8에 나타내었다. 전반적으로 수삼 고압 추출물의 경우 일반 열수 추출물에 비해 PPD계열의 ginsenoside의 함량이 높고 반면 PPT계열의 ginsenoside의 함량은 낮은 경향을 보이며, 수삼 고압 추출물이 PPD와 PPT의 비율 (PPD/PPT)이 1.26으로 수삼 열수 추출물이 1.20을 나타낸 것에 비해 낮은 비율을 나타냄으로써 고압 공정이 PPT계열 ginsenoside의 성분 변환 및 PPD계열



**Fig. 8.** HPLC of ginsenosides from the low quality fresh ginseng extracted by different extraction processes (① Rh<sub>2</sub>, ② Rh<sub>1</sub>, ③ Rg<sub>2</sub>, ④ Rg<sub>3</sub>, ⑤ Rg<sub>1</sub>, ⑥ Rf, ⑦ Re, ⑧ Rd, ⑨ Rc+Rb<sub>2</sub>, ⑩ Rb<sub>1</sub>).

(a) ginsenoside standard, (b) WE: extracts by water extraction, (c) HPE: extracts by high pressure extraction process.

ginsenoside 성분 생성에 영향을 주었다고 사료된다. 이는 홍삼 가공 공정인 증숙 과정 중 열처리에 의한 가수분해반응을 통해 암세포 증식억제 활성을 가진 PPT계열 ginsenoside가 생성 (Nam, 2005)된다는 연구 결과를 미루어 보아 홍삼 가공 공정인 증숙이 아닌 고압 공정을 통해서 파삼으로부터 홍삼의 활성 성분과 유사한 패턴 및 함량의 활성 성분 수득이 가능하



다고할 수 있다. 특히 홍삼의 특징적인 ginsenoside인 Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>, Rh<sub>1</sub> 및 Rh<sub>2</sub>의 함량이 고압 추출물에서 20415.21 ppm, 313.97 ppm, 620.08 ppm, 665.16 ppm을 나타내며 열수 추출물보다 각각 약 1.43배, 2.02배, 2.83배 그리고 1.78배 증가된 결과를 나타내었다. 홍삼의 Ginsenoside-Rh<sub>2</sub>가 세포의 p27<sup>kip1</sup> 단백질 발현을 감소시키는 기작에 작용하고 (Lee *et al.*, 1996), ginsenoside-Rh<sub>1</sub>가 인간 유방암세포에서 estrogen receptor로 작용 (Lee *et al.*, 2003)하여 효과적인 항암 활성을 나타내며 ginsenoside-Rg<sub>3</sub>가 암세포의 침윤 및 성장에 영향을 미치고 종양세포에 대한 인체의 면역반응을 억제하는 cyclooxygenase-2의 발현 및 활성을 저해 (Keum *et al.*, 2003)하는 등의 홍삼 특유의 ginsenoside가 암세포 성장 억제 및 암예방에 수삼 및 백삼보다 탁월하는 연구 결과들을 미루어 볼 때 본 연구에서 고압 공정을 통한 파삼의 ginsenoside Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>3</sub>, Rh<sub>1</sub> 및 Rh<sub>2</sub>의 함량 증가는 수삼을 항암소재로 이용할 수 있는 가공 공정으로 탁월하다고 할 수 있다.

기존의 일반적인 열수 추출공정으로는 한계가 있었던 생리 활성 물질들이 고압 공정을 통해 수득이 용이하여지고 상기 *in vitro* 및 *in vivo* 실험 결과에서 확인한 바와 같이 일반적인 수삼 열수 추출물보다 암세포에 대한 선택적인 생육억제 활성이 우수하고, 암 유발 마우스에서도 효과적인 종양세포 저해 활성과 생존 지연 효과를 나타낸 것으로 보아 고압 공정을 통해 증가된 ginsenoside가 단독 또는 복합적으로 작용하여 우수한 항암활성을 나타내는 것으로 사료되며, 이러한 결과를 통해 향후 고압 공정을 통한 저가 수삼의 가공이 탁월한 항암소재로서의 부가가치를 증대시키고 파삼을 비롯한 인삼의 품질을 높일 수 있는 가공 공정 개발에 있어 매우 의미 있는 결과라 사료된다.

## 감사의 글

본 연구논문은 2009년도 농촌진흥청에서 시행한 바이오그린21(과제번호 : 20080401034)사업의 지원에 의해 얻은 결과이므로 이에 감사드립니다.

## LITERATURE CITED

Chang YK, Choi CH, Cha YJ, Rha HS, Jeong JH, Jang JH and Min MD. (2000). The expression of multidrug resistance-associated protein(MRP) and the chemosensitivity in gastric cancer cell lines. *Journal of the Korean Surgical Society*. 58:752-759.

Choi CH, Kang G and Min YD. (2003). Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by protopanaxtriol ginsenoside from Korean red ginseng. *Planta Medica*. 69:235-240.

Choi YJ, Park JW, Jang LC, Choi JW and Clark OH. (2008).

The antiproliferative and redifferentiative effects of Na-4-phenylbutyrate in human thyroid cancer cell lines. *Journal of the Korean Surgical Society*. 75:162-170.

Doll and Peto R. (1983). The cause of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United states today. *Journal of the National Cancer Institute*. 66:1191-1308.

Han CJ. (2008). New treatments for hepatocellular carcinoma : Systemic chemotherapy. *The Korean Journal of Hepatology*. 14:37-43.

Han GD and Jeong BY. (2005). High pressure processing on foods. *Food Industry and Nutrition*. 10:30-36.

Han ST, Whang WK, Kim IH, Yang BW, Cho SH and Ko SK. (2005). Analysis of ginsenosides of black ginseng. *Yakhak Hoeji*. 49:490-494.

Jang JW. (2008). Review of currently used staging systems for hepatocellular carcinoma. *Journal of Korean Liver Cancer Study Group*. 8:19-23.

Jeong HS, Han JG, Ha JH, Kim Y, Oh SH, Kim SS, Jeong MH, Choi GP, Park UY and Lee HY. (2009). Enhancement of anticancer activities of *Ephedra sinica*, *Angelica gigas* by ultra high pressure extraction. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 17:102-108.

Jia WW, Bu X, Philips D, Yan H, Liu G, Chen X, Bush JA and Li G. (2004). Rh<sub>2</sub>, a compound extracted from ginseng, hypersensitizes multidrug-resistant tumor cells to chemotherapy. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 82:431-437.

Jin WY, Yoo JK, Park BW, Chen QC and Bae KH. (2008). Antitumor activity of health food-C22. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 39:237-240.

Kang SS and Duda RB. (1999). Effect of ginseng on the expression of the onco-suppressor gene p21 in human breast-cancer cell lines. *Journal of the Korean Surgical Society*. 57:782-788.

Keum YS, Han SS, Chun KS, Park KK, Park JH, Lee SK and Surh YJ. (2003). Inhibitory effects of the ginsenoside Rg<sub>3</sub> on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NK-κB activation and tumor promotion. *Mutation Research*. 523-524:75-85.

Kim DC, Hwang WI, In MJ and Lee SD. (2008). Effects of lipid soluble ginseng extract on immune response. *Journal of Ginseng Research*. 32:19-25.

Kim DH, Moon YS, Lee TH, Jung JS, Suh HW and Song DK. (2003). The inhibitory effect of ginseng saponins on the stress-induced plasma interleukin-6 level in mice. *Neuroscience Letters*. 353:13-16.

Kim EH and Rhee DK. (2009). Anti-oxidative properties of ginseng. *Journal of Ginseng Research*. 33:1-7

Kim HM, Oh GT, Han SB, Hong DH, Hwang BY, Kim YH and Lee JJ. (1994). Comparative studies of adriamycin and 28-deacetyl sendanin on *in vitro* growth inhibition of human cell lines. *Archives of Pharmacol Research*. 17:100-103.

Kim HT, Kim JW, Jin TW, Kim JE, Lim MK, Yeo SG, Jang KH, Oh TH and Lee KW. (2007). Effects of blood biochemistry and tumors' weights of *Artemisia capollaris* methanol extract in mice bearing cancer cells. *Journal of veterinary Clinics*. 24:372-378.

Kwak HY, Kwon BM, Song MC, Lee JH, Yang HJ, Kim DK,

- Ahn EM and Baek NI.** (2007). Development of biologically active compounds from edible plant sources-XXIV-Anti-cancer activity of alcohol extracts from edible plants. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 38:312-320.
- Nam KY.** (2005). The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs, processed ginsengs (*Panax ginseng* C.A Meyer). *Journal of Ginseng Research*. 29:1-18.
- Noh YH, Lim GR and Koo JH.** (1996). Ginsenoside-Rb2 and lovastatin on the expression of mRNAs for HMG CoA reductase and LDL receptor. *Korean Journal of Ginseng Science*. 20:241-247.
- Lee EJ, Lee WK, Suh SW, Suh BH and Lee HS.** (2008). Intakes of energy and nutrients and risk of breast cancer-case-control study in Daegu, Gyeongbuk area, Korea. *Korean Journal of Nutrition*. 41:754-766.
- Lee KY, Park JA, Chung E, Lee YH, Kim S and Lee SK.** (1996). Ginsenoside-Rh<sub>2</sub> blocks the cell cycle of SK-HEP-1 cells at the G1/S boundary by selectively inducing the protein expression of p27<sup>kip1</sup>. *Cancer Letters*. 110:193-200.
- Lee MR, Sun BS, Gu LJ, Wang CY, Mo EK, Yang SA, Ly SY and Sung CK.** (2008). Effects of white ginseng and red ginseng extract on leaning performance and acetylcholinesterase activity inhibition. *Journal of Ginseng Research*. 32:341-346.
- Lee JJ, Shin DH, Park SE, Kim WI, Park DI, Choi YH and Hong SH.** (2008). *Euphorbiae humifusae* sensitizes apoptosis of TRAIL-resistant human gastric adenocarcinoma AGS. *Journal of Life Science*. 18:120-128.
- Lee SJ, Sung JH, Lee SJ, Moon CK and Lee BH.** (1999). Antitumor activity of a novel ginseng saponin metabolite in human pulmonary adenocarcinoma cells resistant to cisplatin. *Cancer Letters*. 144:39-43.
- Lee YJ, Jin YR, Lim WC, Ji SM, Choi SH, Jang SY and Lee SK.** (2003). A ginsenoside-Rh<sub>1</sub>, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 84:463-468.
- Oh SH and Lee BH.** (2004). A ginseng saponin metabolite-induced apoptosis in HepG2 cells involves a mitochondria-mediated pathway and it downstream caspase-8 activation and Bid cleavage. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 194:221-229
- Park JD.** (1996). Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Journal of Ginseng Research*. 20:389-415.
- Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, Zhu J and Johnson DH.** (2002). Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 346:92-98.
- Son GH, Nam EJ, Kim SW, Kim JH, Kim YT and Kim SH.** (2008). Diabetes mellitus following platinum-based chemotherapy in gynecologic cancer patients. *Korean Journal of Obstetrics and Gynecology*. 51:167-172.
- Song YB, Kyung JS, Park SB, Wee JJ, Do JH and Kim YS.** (2008). Influence of Korean red ginseng water extract on recovery of hepatic function in hypercholesterolemic mice fed high cholesterol diet. *Journal of Ginseng Research*. 32:283-290.
- Suh SO, Jeung CH, Cho MY and Soon GS.** (1998). The effect of red ginseng for postoperative immune response in gastrointestinal carcinoma. *Korean Journal of Ginseng Science*. 22:32-42.
- Suh SO, Kim J and Cho MY.** (2004). Prospective study for Korean red ginseng extract as an immune modulator following a curative gastric resection in patients with advanced gastric cancer. *Journal of Ginseng Research*. 28:104-110.
- Xu TM, Xin Y, Cui MH, Jiang X and Gu LP.** (2007). Inhibitory effect of ginsenoside Rg<sub>3</sub> combined with cyclophosphamide on growth and angiogenesis of ovarian cancer. *Chinese Medical Journal*. 120:584-488.
- Yang JW.** (1996). Current status of processing and research trends in ginseng products. *Journal of Ginseng Research*. 20:501-519.
- Yoon YK, Lee SE, Lee DJ, Rho MC, Sung JS, Park CB and Jang YJ.** (2009). Anti-cancer activity of Korean local plant extracts inducing apoptosis in various carcinoma cells. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 40:6-12.
- Yun T.** (2009). Targeted therapy and tailored chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 77:9-17.