느릅나무 근피 추출물에 의한 인체 암세포 증식 및 DNA 합성 억제효과

임 선 영

한국해양대학교 해양환경생명과학부

Received July 5, 2007 / Accepted August 21, 2007

Effect of Extracts from Root Bark of *Ulmus parvifolia* on Inhibition of Growth and DNA Synthesis of Human Cancer Cells. Sun Young Lim. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea* - Growth and DNA synthesis inhibitory effects of extracts from root bark of *Ulmus parvifolia* on MG-63 human osteosarcoma cells, HT-29 human colon cancer cells and K-562 leukemia cancer cells were studied. The root bark extract of *Ulmus parvifolia* was extracted with methanol, hot water and juice. The methanol extract showed the highest inhibitory effect on growth of MG-63, HT-29 and K-562 cancer cells by >85%. The treatment of hot water and juice extracts from root bark of *Ulmus parvifolia* also inhibited growth of the above cancer cells with increasing concentration. DNA synthesis of MG-63 and HT-29 cancer cells was significantly inhibited by adding methanol, hot water and juice extracts from root bark of *Ulmus parvifolia* with increasing concentration, showing that the inhibitory effect of growth was more effective on HT-29 cancer cells. These results suggest that the methanol extract from root bark of *Ulmus parvifolia* may have specific active compounds on anticancer effect. The hot water extract also showed a strong inhibitory effect on growth of cancer cells, indicating that the active compounds may be stable to heat.

Key words – *Ulmus parvifolia*, human cancer cells, growth inhibition, DNA synthesis

서 론

느릅나무는 느릅나무과에 속하는 것으로 잎은 광립형 또는 타원형이며 밑은 쐐기 모양이고 길이는 3-12 cm로서 끝은 뾰족하며 톱니가 있으며 전국 각지에 야생하며 일본, 중국에도 분포한다. 느릅나무는 예로부터 수종, 임질, 유선염, 소변 불통에 복용하였으며 외용으로는 환부에 붙여 소염제로 이용하여 왔다[5]. 느릅나무 껍질의 성분으로는 셀룰로오스 22.3%, 헤미셀룰로오스 10.6%, 리그닌 25.2%, 펙틴 8.0%, 유지 7.8% 및 다량의 알긴산 등이 함유되어 있으며 이 밖에도 β -sitosterol, stigmaterol, tannin, resin, catechin 및 catechin apioside 등이 알려져 있다[18].

지금까지 느릅나무에 관한 연구로는 약리작용, 항산화 및 항균효과 등이 보고되었다. 약리작용으로 Kim 등[10]은 느릅나무 수피 메탄올 추출물을 경구 투여했을 때 위액 분비 실험에서 위액 분비 억제와 산 배출의 억제가 확인되었고 궤양 실험과 염산, 에탄올 위 손상 지수를 감소시켰음을 관찰하였고 유기용매 분획물들 중 부탄올 분획물과 물 분획물이 가장 효과적이었다고 보고하였다. Hong 등[6]은 느릅나무 껍질로부터 진통작용이 있는 물질인 friedelin, epifriedelanol 및 taraxerol을 분리하여 느릅나무 추출물의 carrageenin 부종

억제 및 백혈구유주 억제 등에도 효과가 있음을 밝혔으며 이러한 느릅나무의 항염증 활성은 염증부위의 백혈구유주 억제 또는 화학적 중개자(chemical mediator)를 억제하는 작용과 연관성이 있다고 보고하였다. Lee 등[13]은 느릅나무 근피 및 수피 유기용매 추출물은 활성 산소종 제거 및 금속이온 첨가에 따른 지방 산화 억제능이 우수하였으며 각 용매추출물의 Fe^{2+} 이온과 Cu^{2+} 이온에 대한 결합능이 대조구보다 높았고 활성 유리 라디칼에 대한 전자공여능과 아질산염 소거능이 높아 우수한 항산화력을 나타내었다고 보고하였다. 항균 효과에 대해서 Lee 등[12]은 느릅나무 뿌리의 클로로포름 분획물에서만 항균효과가 있다고 보고하였으며 Hong 등[7]은 느릅나무 근피 메탄올 추출물의 에테르 분획에서는 가장 큰 진통효과를 나타내었고 부탄올 추출물에서 가장 높은 항균효과를 나타내었다고 보고하였다. Park 등[16]은 느릅나무 수피 메탄올 추출물이 그람양성과 음성균주에 광범위하게 항균활성을 나타내었으며 각 균주에 대한 항균활성을 나타내는 물질의 최소저해농도는 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*에 대하여 각각 0.3 mg/ml이었다고 보고하였다.

따라서 지금까지 선행된 느릅나무에 관한 연구에서 암세포 증식 억제효과에 관해서는 아직 미비한 실정이므로 본 연구에서는 여러 가지 인체 암세포들을 이용한 암세포 증식 억제 실험과 DNA 합성 저해 실험을 통하여 느릅나무 근피 메탄올 및 열탕 추출물, 즙액에 의한 인체 암세포 성장 억제 효과를 검토하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-410-3988

E-mail : sylim@hhu.ac.kr

재료 및 방법

느릅나무 근피의 용매 추출

본 실험에 사용한 시료는 경남 창원시 소개동 소재의 참느릅나무 (*Ulmus parvifolia* Jacq. var. *coreana* Uyeki)의 근피를 사용하였다. 느릅나무로부터 채취한 근피를 음건하여 분쇄한 후 시료 중량의 2배의 메탄올을 첨가하여 3회 추출하고 회전식 진공 농축기(Büchi, Switzerland)를 이용하여 용매를 완전히 제거하였다. 또한 분쇄한 느릅나무 근피를 물로 3시간 가열하여 열탕 추출물을 얻어 동결 건조하여 사용하였고 느릅나무 근피의 즙액을 얻기 위하여 상온에서 물로 추출한 후 점성이 있는 액을 취하여 동결 건조하였다. 이상의 시료들은 dimethyl sulfoxide (DMSO) 용액에 녹여 사용하였고 세포배양에 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다. 세포배양에 사용된 DMSO의 최종농도는 0.1% 이하가 되도록 하였다.

사용시약 및 기구

세포배양을 위해 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal calf serum (FCS), 0.05% trypsin-0.02% EDTA 그리고 100 unit/ml penicillin-streptomycin을 Gibco사 (USA)로부터 구입하고 사용하였고 세포 배양은 CO₂ incubator (Sanyo, model MCO96, Japan)를 사용하여 실험하였다.

암세포 및 암세포 배양

한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 인체 골육암 세포(MG-63 human osteosarcoma cells), 인체 결장암세포(HT-29 human colon cancer cell) 및 인체 백혈암 세포(K-562 human leukemia cells)를 분양받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. MG-63, HT-29 및 K-562 암세포들을 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% FCS가 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양 중인 세포를 1주일에 2번 refeeding하고 1주일 후 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (Gibco Co., USA)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 75 mm³ cell culture flask에 10 ml 씩 일정수 분할하여 주입하고 계속 6-7일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양 시 각각의 passage number를 기록하였고 passage number가 10회 이상일 때는 새로운 암세포를 액체 질소 탱크로부터 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다.

암세포 증식 억제 및 DNA 합성 저해 실험

암세포 배양과 동일한 방법으로 배양하되 원심분리 한 후

집적된 암세포를 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 24시간 well plate 에 20,000 cells/ml의 농도를 seeding하여 하룻밤 배양하였다. 각 시료 유기용매 추출물을 첨가하여 2일 마다 배지로 교체해서 배양 6일 후에 증식된 세포를 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 분리하여 각 세포수를 hemocytometer로 측정하여 대조군과 비교하여 암세포 성장 억제효과를 관찰하였다[8,17,19,20]. DNA 합성 저해 효과 실험은 각 시료 유기용매 추출물을 첨가하여 배양 48시간 후에 3 µCi/ml의 [³H]thymidine이 표지화된 배지로 교체한 후 2시간 동안 배양한 후 표지화된 배지를 제거하고 고형성분을 1 ml의 PBS로 2번 씻은 다음 1 ml의 5% cold TCA를 첨가하여 4°C에서 냉장 방치하였다. 1시간 후 TCA를 제거하고 250 µl의 1% SDS를 첨가하여 cells을 분리하기 위하여 55°C에서 1시간 동안 가열하였다. Vial에 옮긴 후 125 µl의 H₂O로 2번 씻어내고 3.5 ml의 cocktail을 첨가한 후 vortexing 하여 Beckman LS 250 Scintillation counter (USA)로 radioactivity를 측정하였다[9].

통계분석

실험결과는 Mean ± SD로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Duncan's multiple range test를 실시하여 p<0.05 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

암세포 증식 억제 효과

일반적인 항암제 개발 방법으로는 화학적 합성이나 천연 추출물의 검색에 의해 생물활성 선도물질을 발견하고 이에 대한 다양한 유도체의 개발로 가장 우수한 성분을 임상실험을 거쳐 상품화하는 접근방법이 많이 채택되는데 특히 천연물의 경우 기존의 약제들과는 전혀 다른 새로운 우수한 물질을 찾아낼 가능성이 많아 이러한 개발연구에 가장 적합한 대상이다. 이들 항암제 개발 전략에서 중요한 요소는 단기간에 많은 후보물질의 항암작용 여부를 검사할 수 있는 민감하면서도 실험조작이 간편한 항암검색 시스템인데 이러한 검색 시스템으로 과거에는 랫트나 마우스에서 유래한 백혈병 종양세포인 L1210 이나 P388 등을 실험동물에 이식한 후 후보물질의 항암치료효과를 측정하는 *in vivo* 실험이 1차 검색에 이용되어왔다. 그러나 이러한 방법은 비용과 시간이 막대하게 소요될 뿐만 아니라 백혈병 이외의 인체의 고형암종(위암, 간암, 대장암 등)들에 의해 선택적으로 효과를 나타내는 물질의 발견이 어렵다는 점 때문에 현재는 인체의 대표적인 암들로부터 수립된 암세포주 판넬에 대한 시험관내에서의 항암검색법으로 1차 검색을 실시하는 경향이다. 1차 검색에서 어느 특정한 암세포에 대해 선택적인 세포독성을 보이며

그 암세포를 누드 마우스에 이식하여 종양을 만들고 이에 대한 치료효과를 검색하는 *in vivo* xenograft test를 이행하는 것이 일반적이다[14,11,14].

따라서 본 연구에서는 인체 암세포계(MG-63 골육암 세포, HT-29 결장암세포, K-562 백혈암세포)를 이용하여 느릅나무 근피 메탄올 추출물, 열탕 추출물 및 즙액에 의한 암세포 성장에 미치는 효과를 검토하였다. MG-63 인체 골육암세포를 이용하여 항암효과를 실험한 결과(Fig. 1), 느릅나무 근피 메탄올 추출물의 경우 첨가농도 1 mg/ml에서부터 61%의 높은 억제효과를 나타내었고 농도 의존적으로 증식 억제 효과가 높았으며 첨가농도 20 mg/ml에서는 96%의 억제효과를 나타내었다. 느릅나무 근피 열탕 추출물은 첨가농도 1 mg/ml에서 29%로 낮은 억제효과를 나타내었으나 첨가농도 20 mg/ml에서는 95%의 억제효과를 나타내었다. 느릅나무 근피 즙액의 경우, 낮은 농도에선 느릅나무 근피 메탄올 추출물과 열탕 추출물에 비해 증식 억제효과가 다소 떨어졌지만 첨가농도 20 mg/ml에서 78%의 억제효과를 나타내었다. Fig. 2는 인체 결장암세포인 HT-29를 이용하여 느릅나무 근피 추출물들이 암세포 성장에 미치는 영향을 살펴 본 것이다. 느릅나무 근피의 메탄올 추출물, 열탕 추출물 및 즙액은 낮은 농도인 1 mg/ml에서부터 활성을 나타내어 50%이상의 암세포 증식 억제효과를 나타내어 앞서의 MG-63 골육암 세포에서 보다 그 증식 억제효과가 높은 것으로 나타났다. 인체 백혈암 세포인 K-562의 경우, 느릅나무 근피 메탄올 추출물은 첨가농도 1 mg/ml에서부터 48%의 억제효과를 나타내었고 농도의 증가와 더불어 그 증식 억제효과가 컸으며 첨가농도 20 mg/ml에서는 92%의 억제효과를 나타내었다. 느릅

Fig. 1. Inhibitory effect of extracts from root bark of *Ulmus parvifolia* on the growth of MG-63 human osteosarcoma cells after 6 days of incubation at 37°C. MeOH, methanol extract from root bark of *Ulmus parvifolia*; Hot water, hot water extract from root bark of *Ulmus parvifolia*; Juice, juice extract of from root bark of *Ulmus parvifolia*

*Significantly different from the control at $p<0.05$

Fig. 2. Inhibitory effect of extracts from root bark of *Ulmus parvifolia* on the growth of HT-29 human colon cancer cells after 6 days of incubation at 37°C. MeOH, methanol extract from root bark of *Ulmus parvifolia*; Hot water, hot water extract from root bark of *Ulmus parvifolia*; Juice, juice extract from root bark of *Ulmus parvifolia*

*Significantly different from the control at $p<0.05$

Fig. 3. Inhibitory effect of extracts from root bark of *Ulmus parvifolia* on the growth of K-562 human leukemia cells after 6 days of incubation at 37°C. MeOH, methanol extract from root bark of *Ulmus parvifolia*; Hot water, hot water extract from root bark of *Ulmus parvifolia*; Juice, juice extract from root bark of *Ulmus parvifolia*

*Significantly different from the control at $p<0.05$

나무 근피 열탕 추출물도 첨가농도 1 mg/ml에서 48%의 억제효과를 나타내었고 첨가농도 20 mg/ml에서는 92%의 억제효과를 나타내었다. 느릅나무 근피 즙액의 경우도 농도 의존적으로 암세포의 증식을 억제시켜 첨가농도 20 mg/ml에서 78%의 억제효과를 나타내었다. Lee 등[13]은 느릅나무 근피 및 수피 유기용매 추출물에 의한 아질산염 소거 실험에서도 우수한 소거능을 보였고 특히 pH 1.2에서 가장 높은 아질산염 소거능을 보였으며 pH 6.0으로 갈수록 급격히 감소하였다고 보고하였다. 따라서 위내 환경이 pH 1.2이라는 것을 감안할 때 아질산염 소거능을 보인 느릅나무 근피, 수피 각

추출물은 아질산염이 많은 채소류와 가공식품을 함께 섭취함으로써 체내에서 니트로사민 생성을 감소시킬 수가 있을 것으로 기대된다고 언급하였다.

암세포 DNA 합성 저해 효과

암세포 증식 저해와 세포 내의 DNA 합성 저해 사이에 연관성이 있을 것으로 예상되어져 MG-63 인체 골육암세포와 HT-29 인체 결장암세포를 이용하여 암세포의 DNA 합성 저해효과를 배양 2일 후 liquid scintillation counter를 이용하여 측정한 결과는 Table 1과 같다. 느릅나무 근피 메탄올 추출물 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml 첨가농도에서 각각 54%, 81%, 91%의 DNA 합성이 감소되는 것을 관찰하였고 느릅나무 근피 열탕 추출물 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml 농도에서 각각 36%, 77%, 88%의 DNA 합성 저해효과를 가지는 것으로 나타났다. 즙액의 경우, 이상의 두 추출물들에 비해 다소 떨어지는 저해효과를 보였으나 첨가농도 20 mg/ml에서는 81%의 저해효과를 나타내었다. Table 2는 인체 결장암세포를 이용하여 느릅나무 근피 메탄올 추출물, 열탕 추출물 및 즙액에 의한 암세포 DNA 합성 저해효과를 검토한 것이다. 느릅나무 근피 메탄올 추출물은 농도에 의존적으로 그 저해효과가 증가하였으며 첨가농도 20 mg/ml 농도에서 97%의 높은 저해효과를 보였다. 느릅나무 근피 열탕 추출물은 20 mg/ml 첨가농도에서 94%의 저해효과가 나타났는데 MG-63 골육암세포에 비해서 DNA 합성 저해효과가 높았음을 관찰 할 수 있었다. 즙액의 경우도 낮은 농도에서는 저해효과가 낮았으나 첨가농도 20 mg/ml에서는 92%의 저해

Table 1. Effect of extracts from root bark of *Ulmus parvifolia* on the [3 H] thymidine incorporation in MG-63 human osteosarcoma cells after 2 days of incubation at 37°C

Sample concentration (mg/ml)	[3 H]thymidine (x cpm)	Inhibition rate (%)
Control	5813 $\pm$ 457.1 ^a	-
Methanol extract 5	2675 $\pm$ 116.7 ^c	54
10	1133 $\pm$ 138.5 ^d	81
20	535 $\pm$ 10.0 ^f	91
Hot water extract 5	3734 $\pm$ 180.4 ^b	36
10	1351 $\pm$ 109.7 ^d	77
20	702 $\pm$ 14.0 ^e	88
Juice extract 5	3965 $\pm$ 237.4 ^b	32
10	1735 $\pm$ 136.8 ^d	70
20	1083 $\pm$ 40.6 ^d	81

^{a-f}Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

Table 2. Effect of extracts from root bark of *Ulmus parvifolia* on the [3 H] thymidine incorporation in HT-29 human colon cancer cells after 2 days of incubation at 37°C

Sample concentration (mg/ml)	[3 H]thymidine (x cpm)	Inhibition rate (%)
Control	3620 $\pm$ 389.5 ^a	-
Methanol extract 5	2015 $\pm$ 250.8 ^b	44
10	217 $\pm$ 228.7 ^d	94
20	116 $\pm$ 16.0 ^d	97
Hot water extract 5	2603 $\pm$ 121.3 ^b	28
10	325 $\pm$ 45.6 ^d	91
20	217 $\pm$ 12.6 ^d	94
Juice extract 5	3130 $\pm$ 432.8 ^a	14
10	1116 $\pm$ 228.7 ^c	69
20	279 $\pm$ 108.2 ^d	92

^{a-d}Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

과를 보였다. Lee 등[12]은 느릅나무 수피의 항균효과를 검토한 실험에서 그람 양성균과 그람 음성균에 모두 항균효과가 나타났으며 열 처리한 추출액에서도 그 항균효과에는 차이가 없었으므로 항균성 물질은 열에 안정한 것으로 보고하였다. 반면, Park 등[15]은 20종의 한약제를 100°C추출물에서 1 시간 동안 가열 추출하여 얻은 추출물의 항균력을 조사한 결과 느릅나무 수피의 물 추출물이나 95% 에탄올 추출물은 항균력이 없는 것으로 보고하였다. Hong 등[7]은 느릅나무의 물 추출물 및 메탄올 추출물이 그람 양성균인 *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* 등에서는 발육억제를 보였으나 그람 음성균인 *Escherichia coli*에서는 항균력을 보이지 않았다고 보고하였다. 따라서 실험재료에 따라 항균력을 가지는 물질이 다양하여 추출여부가 다르므로 추출용매의 선정이 항균성을 나타내는 주성분을 찾아내는 데 중요한 과제라고 여겨진다.

이상의 결과로부터 느릅나무 근피 추출물은 인체 암세포의 증식을 크게 억제시켰으며 이러한 억제효과는 DNA 합성 저해 실험에서도 확인 할 수가 있었으며 특히 느릅나무 근피 메탄올 추출물의 효과가 컸으므로 향후 극성이 다른 용매로 더욱 더 분획하여 각각의 분획물들의 생리활성을 검토하여 느릅나무 뿌리 껍질로부터 항암효과를 가지는 물질의 분리가 필요하다고 여겨진다.

요 약

인체 암세포계(MG-63 골육암 세포, HT-29 인체 결장암세

포, K-562 백혈암세포)를 이용하여 느릅나무 근피 메탄올 추출물, 열탕 추출물 및 즙액에 의한 암세포 성장에 미치는 효과를 검토하였다. 느릅나무 근피 메탄올 추출물, 열탕 추출물 및 즙액은 낮은 농도에서부터 인체 골육암 세포의 증식을 억제시켰다. 인체 결장암세포와 백혈암세포에서도 느릅나무 근피 메탄올 추출물, 열탕 추출물 및 즙액은 낮은 농도인 1 mg/ml에서부터 활성을 나타내어 40%이상으로 암세포 증식 억제효과를 나타내어 앞서의 MG-63 골육암 세포에서 보다 그 증식 억제효과가 높은 것으로 나타났다. 느릅나무 근피 메탄올 추출물, 열탕 추출물 및 즙액을 골육암과 결장암세포에 투여한 2일 후에 세포내의 DNA 합성에 미치는 영향을 측정한 결과, 농도 의존적으로 암세포의 DNA 합성을 저해하는 것을 살펴 볼 수가 있었다. 따라서 느릅나무 근피 추출물은 인체 암세포 증식을 크게 억제하였으며 열탕 추출물에서도 항암활성 효과를 보여 느릅나무 근피 유래 생리활성 물질은 열에 안정한 것으로 여겨진다.

참 고 문 헌

- Barranco, S. C., C. M. Townsend, C. Casartelli, B. G. Macik, N. L. Burger, W. R. Boerwinkle and W. K. Gourley. 1983. Establishment and characterization of an *in vitro* system for human adenocarcinoma of the stomach. *Clin. Chest Med.* **43**, 1703-1709.
- Brattain, M. G., D. E. Brattain, W. D. Fine, F. M. Khaled, M. E. Marks, P. M. Kimball, L. A. Arcolano and B. H. Danbury. 1982. Initiation and characterization of cultures of human colonic carcinoma with different biological characteristics utilizing feeder layers of confluent fibroblasts. *Oncodev. Biol. Med.* **2**, 355-366.
- Clement, J. J., M. S. Gorman, I. Wodinsky, R. Catande and R. K. Johnson. 1980. Enhancement of anti-tumor activity of alkylating agents by the radio-sensitizer misonidazole. *Cancer Res.* **40**, 4165-4172.
- Denizot, F. and R. Lang. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* **89**, 271-277.
- Duke, J. A. 1985. *Handbook of medicinal herbs*. pp. 495, CRC Press LLC, Florida.
- Hong, N. D., Y. S. Rho, N. J. Kim and J. S. Kim. 1990. Studies on the constituents of *Ulm cortex*. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**, 201-204.
- Hong, N. D., Y. S. Rho, N. J. Kim and J. S. Kim. 1990. A study on efficacy of *Ulm cortex*. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**, 217-222.
- Hwang, W. I., H. S. Son, R. H. Ji and N. G. Baik. 1989. Effects of *Panax ginseng* and sodium ascorbate (Vitamin C) treatment on cancer cell growth I. Synergism of combined *Panax ginseng* and vitamin C action *in vitro*. *Kor. J. Ginseng Sci.* **13**, 242-247.
- Kageyama, K., Y. Onoyama, M. Nakanishi, I. Matsuyasa, S. Otani, S. Morisawa. 1989. Synergistic inhibition of DNA synthesis in Ehrlich ascite tumor cells by a combination of unsaturated fatty acids and hyperthermia. *J. Applied Toxicol.* **9**, 1-4.
- Kim, Y. S. 1994. Pharmacological studies of methanol extract of the cortex of *Ulmus davidiana var. japonica*. MS. thesis. Graduate school Duksung Women's Univ., Seoul.
- Kubota, H., T. Harada, S. Morikawa and T. Nakamura. 1988. *In vivo* selection of tumorigenic subline from non-tumorigenic human gastric carcinoma cells: in relation to proliferative properties *in vivo* and in nude mice. *Gastroenterol. Jpn.* **23**, 371-383.
- Lee, H. Y., C. K. Kim, T. K. Sung, T. K. Mun and C. J. Lim. 1992. Antibacterial activity of *Ulmus pumila* L. extract. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **20**, 1-5.
- Lee, Y. J. and J. P. Han. 2000. Antioxidative activities and nitrite scavenging abilities of extracts from *Ulmus davidiana*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 893-899.
- Park, J. G., H. Frucht, R. V. LaRocca, D. P. Bliss, Y. Kurita, T. R. Chen, J. G. Henslee, J. B. Trepel, R. T. Jensen, B. E. Johnson, Y. J. Bang and J. P. Kim. 1990. Characteristics of cell lines established from human gastric carcinoma. *Cancer Res.* **50**, 2773-2780.
- Park, W. H., D. S. Jang and H. R. Cho. 1992. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **21**, 91-96.
- Park, J. S., C. J. Shim, J. H. Jung, G. H. Lee, C. K. Sung and M. J. Oh. 1999. Antimicrobial activity of *Ulm cortex* extract. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1022-1028.
- Sekiguchi, M. and T. Suzuki. 1980. List of human cell lines established and maintained in Japan. *Tissue Culture* **6**, 527-548.
- Shin, M. K. 1997. *Clinical traditional herbology*. pp. 668-669, Younglimsa, Seoul.
- Tischer, M., J. H. 2nd Cardellina, M. R. Boyd and G. M. Cragg. 1992. Cytotoxic quassinoids from *Cedronia granatensis*. *J. Nat. Prod.* **55**, 667-671.
- Willson, J. K. V., G. N. Bittner, T. D. Oberley, L. F. Meisner and J. L. Weese. 1987. Cell culture of human colon adenomas and carcinomas. *Cancer Res.* **47**, 2704-2713.