

## 한국산 생약으로부터 항암물질의 개발(제4보). 소엽 부탄올 가용분획의 항암활성

최규은 · 광정숙\* · 김영옥 · 백승화 · 한두석\*\*  
원광대학교 자연과학대학 화학과, \*목포전문대학 치위생과,  
\*\*원광대학교 치과대학 구강해부학교실

### Development of Anticancer Agents from Korean Medicinal Plants (Part 4). Antitumor Activity of the Butanol Soluble Fraction of *Perilla frutescens*

Kyw Eun Choi, Jung Suk Kwag\*, Young Ok Kim,  
Seung Hwa Baek and Du Seok Han\*\*

Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Wonkwang University,  
Iksan 570-749, Korea,

\*Department of Dental Hygiene, Mokpo Junior College, Mokpo 530-730, Korea,

\*\*Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Wonkwang University,  
Iksan 570-749, Korea

(Received July 22, 1997)

(Accepted October 6, 1997)

**ABSTRACT** : This study was carried out to develop antitumor effect of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* on (KB cells) human oral epitheloid carcinoma cells. The cytotoxicity of methanolic extract of *Perilla frutescens* on KB cells was evaluated by 3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide(MTT) assay. The antitumor activity of various fractions obtained from n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* was evaluated in human oral epitheloid carcinoma cells. The antitumor activity of the n-butanol soluble fraction on human oral epitheloid carcinoma cells was evaluated by MTT assay of colorimetric method. The light microscopic study was carried out to observe morphological changes of cultured human oral epitheloid carcinoma cells.

These results were obtained as follows :

1. The fractions 1,2 and 3 of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* were shown significant antitumor activities.
2. The number of human oral epitheloid carcinoma cells were decreased and tend to form cell cluster by treatment with fractions 1,2,3 and 4 of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens*.
3. The fraction 1 of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* showed the highest antitumor activity on *Perilla frutescens*. It has been selected as a lead fraction for further examinations.

**Key Words** : *Perilla frutescens*, Human oral epitheloid carcinoma cells, MTT assay, SRB assay, n-Butanol fraction, Cytotoxicity

## I. 서 론

최근 암 발생률은 산업의 급격한 발달, 지구 생태계 및 식생활의 변화등으로 과거에 비해 급격히 증가하고 있으나, 아직도 암의 발생기전이 불명확하여 난치성 질병으로 알려져 있다. 현재 사용되고 있는 의약품들은 효소제제나 백신등의 생물학적 제제, 순수합성의

약품 및 천연물 유래의 의약품등으로 크게 구분할 수 있는 데, 이중 유전자, 효소, 백신등을 이용한 항암제는 실용단계에 있는 상태는 아니며, 화학요법에 의해 개발된 많은 항암제는 암의 종류에 따라 약리작용이 다양하고(Gillman *et al.*, 1991; Hersh *et al.*, 1986), 독성에 의한 부작용이 다양하게 나타나기 때문에 암치료시 문제점으로 지적되고 있다(Chung *et al.*, 1987; Seo *et*

al., 1992). 또한 항암제는 암세포의 성장을 효과적으로 억제하기도 하지만, 때로는 정상 세포에 대해서 독성을 나타내기도 한다. 따라서 국내의 많은 학자들은 이 같은 독성의 작용기전을 밝히기 위하여 많은 연구를 수행하고 있으며(Yamazaki *et al.*, 1992; Takahashi *et al.*, 1987; Tompson *et al.*, 1966; Molinaro *et al.*, 1972; Ellem *et al.*, 1968; Cho *et al.*, 1967), 근래에는 세포배양기술이 급격히 발달함에 따라 각종 세포를 배양한 후, 여러 독성물질을 투여함으로써 이들의 세포독성에 대한 기전을 세포 수준에서 규명하려는 연구도 활발히 진행되고 있다. 그리고 항암제의 부작용을 최소화하고 치료 효과를 높이기 위하여, 생약 및 천연물을 이용한 항암제의 개발이 지속적으로 시도되고 있다(Aburada, 1988; Kawamura *et al.*, 1988; Takemoto *et al.*, 1988).

한 등(1994)은 소엽에서 분리한 추출액이 NIH 3T3 섬유모세포와 생쥐의 피부암세포에 미치는 세포독성과 항암작용에 대하여 보고하였다. 8종의 소엽 추출물을 NIH 3T3 섬유모세포와 생쥐 피부암세포에 적용하여 생존세포율과 MTT정량을 실시한 결과, 메탄올 추출물은 세포독성이 약하고 항암작용이 강한 것으로 보고하였고, 한 등(1994)은 세포독성이 적고 항암작용이 강한 메탄올 추출물과 세포독성이 강하고 항암작용도 강한 에탄올 추출액에서 각각 5종류의 용매분획을 조제하여, 인체피부암세포에 적용하여 세포수 생존률, MTT정량 및 LDH정량을 실시한 결과, 클로로포름 분획에서 항암활성이 유의하게 나타난 것으로 보고하였다. 박 등(1996)은 메탄올 추출액에서 분리한 5종의 용매분획을 인체 구강유상피 암세포에 적용하여, MTT정량, NR정량 및 SRB정량을 실시한 결과 부탄올 분획과 물 분획에서 항암활성이 유의하게 나타나고, 클로로포름 분획에서는 항암활성이 없는 것으로 보고하였으나, 한 등(1994)의 보고와 일치하지 않는 기전에 대해서는 암세포가 다른 이유 이외에는 그 기전을 규명하지 못하고 있다. 상기에 보고된 바와 같이, 소엽의 다양한 용도와 약리효과를 근거로 독성이 작고, 항암작용이 강하게 나타난 자소엽의 메탄올 추출액에서 용매로 5종류의 분획을 만들어 이중 부탄올 층을 분획하여, 인체 구강유상피 암세포에 대한 항암작용을 측정하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 시약 및 기기

추출 및 분리에 사용된 methanol, n-hexane, chloroform,

n-butanol, H<sub>2</sub>O는 증류 정제하여 사용하였다. 분석시 사용한 thin layer chromatography(TLC)는 silicagel plate(0.25mm, polygram sil N-HR/UV<sub>254</sub>, E. Merck)를 사용하였고, UV(Pye-Unicam. model SP-400), HPLC(Gilson model 116)등이 사용되었다. Flash chromatography 사용시 glass column(6 cm×1.3 m), silica gel(Kieselgel 60, 230-400 mesh) 및 fraction collector(Gilson FC 204)를 사용하여 분리하였다. 세포의 배양은 CO<sub>2</sub> incubator(Shellab Co., USA)를 사용하였고, 세포수의 계산은 Turk형 혈구계산기를 사용하였으며, 현미경은 도립현미경 (Inverted Microscope, Olympus)을 사용하였다. MTT분석법은 ELISA reader (ETY-96, Japan)를 사용하였다.

### 2. 소엽자원

본 실험에서 사용한 소엽은 1994년 충남 논산시 광석면에서 구입하여 외부 형태를 비교 조사하여 확인 후 사용하였다. 실험에 사용된 식물체는 원광대학교 자연과학대학 천연물화학교실에 보관되어 있다.

### 3. 추출 및 분획

1994년 충남 논산시 광석면에서 구입하여 그늘에서 말린 소엽을 정선한 후, 조말하여 약 2000 g을 평량하여 수욕상에서 MeOH을 3배량 가하여 3시간씩 환류하여 추출한 다음, 이 추출액을 여지로 여과하고, 여액을 감압농축하여, 흑말 메탄올 추출액 204.88 g(10.24%)을 얻었다. 이것을 물에 현탁한 후, n-hexane으로 수회 반복 추출하고, 추출액을 무수망초로 탈수시키고 추출액을 여과후, 감압농축시켜서 n-hexane 분획 59.66 g을 얻었다. 계속하여 chloroform, ethyl acetate, n-butanol로 순차적으로 추출하고, 위의 방법에 따라 용매를 감압농축하여 chloroform분획 32.17 g, ethyl acetate 분획 14.43 g, n-butanol 분획 17.92 g과 잔류하는 수층엑스 56.47 g을 얻었다.

### 4. 실험방법

#### 1) 시료의 처리

조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였다가, 사용직전에 배지로 희석하여 10<sup>-4</sup> mg/ml 농도를 실험에 사용하였다.

#### 2) 세포배양

소엽의 부탄올 소분획의 항암작용을 측정하기 위하

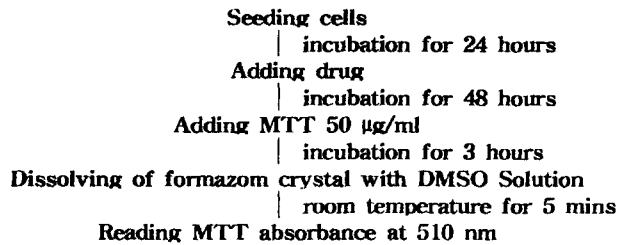


Fig. 1. Flow scheme of MTT assay.

여, 서울대학교 암연구소에서 부양 받은 인체 구강유상피 암세포는 RPMI-1640(Gibco, USA)에 10% fetal bovine serum(Gibro, USA)과 penicillin G(25 unit/ml), streptomycin(25 µg/ml)를 첨가하여 사용하였다. 세포의 배양은 온도 37°C, 습도 95%, 탄산가스 농도 5%(CO<sub>2</sub> incubator, Shellab, USA)를 사용하였다. 실험을 위하여 일차 배양한 flask의 세포를 0.25% trypsin으로 처리하여, Turk형 혈구계산기를 이용하여 세포수가 2×10<sup>4</sup> cell/ml가 되도록 세포부유액을 만들었다.

### 3) MTT정량 분석법

Mosmann(1983)의 방법에 의하여, 세포를 소엽 메탄올 추출물의 부탄을 분획과 부탄을 소분획이 첨가된 배양액에서 48시간 배양한 후, 분석 당일 조제한 MTT (Sigma) 50 µg/ml가 포함된 배양액을 well당 1 ml씩 넣어 3시간 배양하였다. 배양후 배양액을 버리고, dimethylsulfoxide(DMSO)를 2 ml/well씩 넣어 5분간 실온방치하여 MTT formazan을 용해한 후, ELISA reader로 MTT의 흡광도를 측정하여 대조군과 비교조사하였다. Fig. 1에 개략적인 실험방법을 정리하였다.

### 4) 세포의 광학현미경적 관찰

광학현미경으로 세포를 관찰하기 위하여 인체 구강유상피 암세포는 MTT분석법을 하기 전에 도립현미경(Inverted microscope, Olympus)으로 관찰하고 사진을 촬영하였다.

### 5) 통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 계산하였고, 대조군과 실험군간의 차이는 Student's t-test를 사용하여, P-value가 0.05미만일때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## III. 결과 및 고찰

사람에게 사용할 경우, 독성에 의한 부작용이 적고

Table 1. The MTT absorbance of 3T3 fibroblast on solvent extracts of *Perilla frutescens* on human oral epitheloid carcinoma cells.<sup>a)</sup>

Extract	3T3 fibroblast	
	Mean ± S.D.	% of control
Control	1.958±0.019	(100.0)
Methanol	2.262±0.048	(115.2)
Hexane	2.204±0.024	(103.3)
80% Acetone	2.150±0.079	(109.8)
Chloroform	1.672±0.115**	( 85.3)
Ether	1.408±0.050**	( 71.9)
H <sub>2</sub> O	1.736±0.012**	( 88.6)
Ethyl acetate	1.921±0.042	( 98.1)
Ethanol	1.752±0.060**	( 89.4)

Data represent mean ± S.D.(% of control).

Significantly different from the control group : \*\*P<0.01

<sup>a)</sup>All fractions were tested at 10<sup>-4</sup> mg/ml concentration.

항암작용이 강한 항암제를 한국산 생약으로 부터 개발하기 위한 일환으로, 소엽을 물과 유기용매로 추출한 결과 메탄올 추출물이 세포독성이 약하고 항암효과가 강하게 나타났으며, 또한 마우스 피부암세포에 항암활성이 있다고 보고하였다(한 등, 1994).

Table 1의 MTT정량에 있어서도 메탄올 추출물 115.2%, 헥산 추출물 103.3%, 80% 아세톤 추출물 109.8%로 MTT량이 감소하지 않아 독성이 없는 것으로 나타나는 경향이었으나 에테르 추출물 71.9%, 클로로포름 추출물 85.3%, 물 추출물에서 88.6%로 MTT량이 감소하여 비교적 강한 세포독성을 나타내는 경향이였다. 소엽으로부터 분류한 8종의 추출물에서 3T3섬유모세포에 적용하여 세포수 산정과 MTT정량을 실시한 결과 메탄올 추출물에서 세포독성이 가장 약하게 나타났다.

한(1994)등은 소엽의 메탄올 추출물을 여러가지 유기용매로 분획한 후, 인체 구강유상피 암세포에 적용하여 세포독성과 항암활성측정 방법으로 MTT정량 및 SRB정량법을 이용하고, 도립현미경에 의한 광학현미경적 관찰을 실시하여, 5종의 소엽 메탄올 추출물의 용매분획의 항암활성은 부탄을 분획과 물 분획에서 인체 구강유상피 암세포에 유의성 있는 항암활성이 있음을 보고한 바 있다(한 등, 1994). 본 실험은 소엽 메탄올 추출물의 용매분획중에 부탄을 분획에서 항암활성이 있음을 보고하였기에, 소엽 메탄올 추출물을 Fig. 2와 같이 계통분획하였다. 계통분획 방법은 소엽 2,000 g을 메탄올로 추출하여 메탄올 추출물 204.88 g(10.24%)을 얻었다. 이를 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물가용부로 분획하여 각각 59.66 g(29.12%), 32.17 g(15.70%), 14.43 g(7.04%), 17.92 g(8.75%), 및 56.47 g(27.56%)를 얻었다. 여기서 헥산과 물 분획물의 수율이 많은 것으로 보아, 극성이 적은 헥산과 극성이

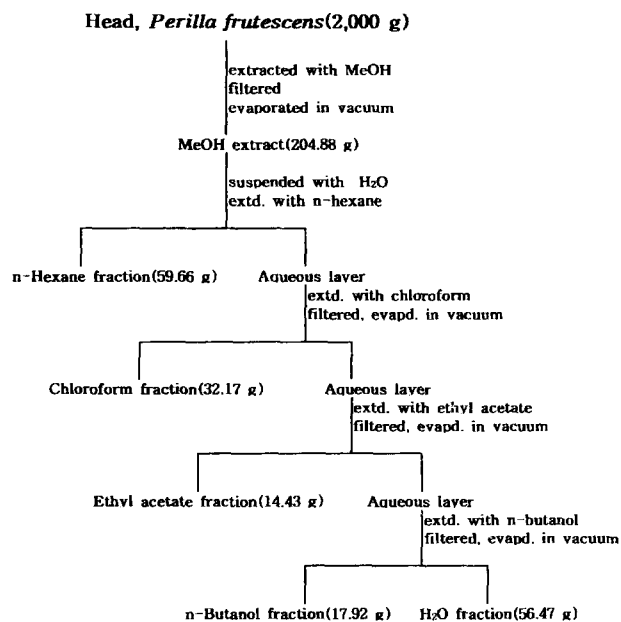


Fig. 2. Extraction and fractionation of head of *Perilla frutescens*.

Table 2. Liquid-liquid extractions of organic and aqueous soluble compounds of the methanolic extract of leaves of *Perilla frutescens*.

Solvent	Yield (%)
n-Hexane	59.66 g(29.12)
Chloroform	32.17 g(15.70)
Ethyl acetate	14.43 g( 7.04)
n-Butanol	17.92 g( 8.75)
H <sub>2</sub> O	56.47 g(27.56)
Total	180.69 g(88.17)

큰 물에 많이 이행됨을 알 수 있다(Table 2).

소엽 메탄올 추출물의 부탄올 분획에서 인체 구강유상피 암세포에 항암활성이 있어, 부탄올 분획을 silica gel을 사용하여 Flash chromatography법으로 CHCl<sub>3</sub>: MeOH(gradient) 및 MeOH:H<sub>2</sub>O(gradient)을 사용하는 이동상으로 추출하여 6개의 fraction을 얻었다(Fig. 3, Table 3).

n-BuOH층에서 얻은 추출물을 silica gel이 충전된 column(6 cm × 1.3 m)을 사용하여 fraction 1-6을 얻었으

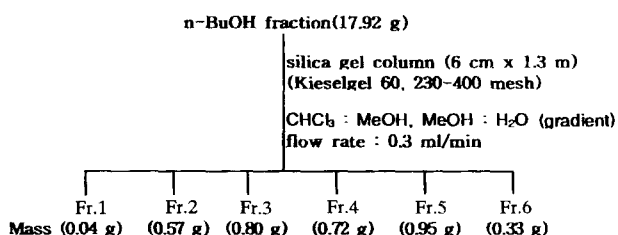


Fig. 3. Fractionation of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens*.

Table 3. Flash chromatography of n-butanol soluble compounds of the methanolic extract of leaves of *Perilla frutescens*.<sup>a)</sup>

Fraction	Tube no.	Yield (g)	Number of spots in TLC	Mobile phase
1	1-140	0.04	4	CHCl <sub>3</sub>
2	141-153	0.57	2	CHCl <sub>3</sub> : MeOH (9:1)
3	154-473	0.80	5	CHCl <sub>3</sub> : MeOH: H <sub>2</sub> O (8:5:1)
4	474-645	0.72	3	CHCl <sub>3</sub> : MeOH: H <sub>2</sub> O (8:5:1)
5	646-1048	0.95	6	CHCl <sub>3</sub> : MeOH: H <sub>2</sub> O (7:5:1)
6	1049-1211	0.33	2	CHCl <sub>3</sub> : MeOH: H <sub>2</sub> O (1:7:3)

<sup>a)</sup>All fractions were tested at 10<sup>-4</sup> mg/ml concentration.

며, CHCl<sub>3</sub>: MeOH, MeOH:H<sub>2</sub>O(gradient)가 solvent로 사용되었고, 각각의 fraction은 short and long wavelength에서 TLC spots의 수로 fraction을 나누었다. 각각 분리된 spot을 각종 이동상으로 two-dimensional development하여 spot수를 결정하였다. Fraction 3은 대부분 long wavelength에서 밝은 형광을 나타냈다. 분획한 fraction 1-6를 사용하여 인체 구강유상피 암세포에 대한 MTT정량분석법을 실시하였다.

소엽 메탄올 추출물의 용매분획과 같은 방법으로 조제한 부탄올 분획 10<sup>-4</sup> mg/ml 농도를 인체 구강유상피 암세포에 적용하여, 항암활성측정에 주로 사용되고 있는 검색법(screening test)인 MTT정량분석법을 이용하였다. MTT정량분석법은 세포내 소기관의 활성을 측정하여, 각종 화학물질의 세포독성을 일차적으로 검정하는데 이용되는 방법으로, 분광광도계를 이용하여 정량적으로 세포독성을 비교할 수 있는 편리한 방법이다. 어떤 물질에 독성이 있으면 각종 효소의 양은 감소하게 된다. 본 실험에서는 인체 구강유상피 암세포에 항암활성이 유의하게 나타났던 부탄올 분획에서 미지의

Table 4. The MTT absorbance of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* on human oral epitheloid carcinoma cells.<sup>a)</sup>

Group	MTT quantity	
	Mean ± S.D	(% of control)
Control	3.78 ± 0.322	(100.0)
Fr. 1	2.68 ± 0.428*	(71.1)
Fr. 2	2.70 ± 0.399*	(71.5)
Fr. 3	2.69 ± 0.399*	(71.3)
Fr. 4	2.83 ± 0.210*	(74.8)
Fr. 5	2.90 ± 0.220*	(76.8)
Fr. 6	2.92 ± 0.143*	(77.4)

Data represent mean ± S.D.(% of control).

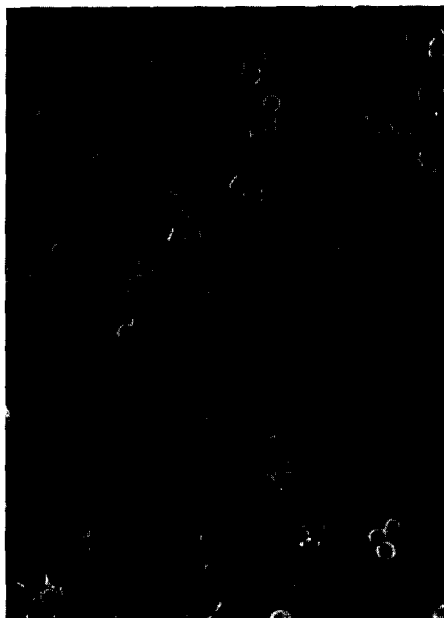
Significantly different from the control group: \*P<0.05

<sup>a)</sup>All fractions were tested at 10<sup>-4</sup> mg/ml concentration.

성분이 함유되어 있는 6종의 소분획을 조제한 후, 인체 구강유상피 암세포에 적용하여 세포기관의 활성을 MTT정량분석법을 이용하여 실험하였으며 그 결과는 Table 4와 같다.



**Fig. 4.** An inverted photomicrograph of human oral epitheloid carcinoma cells after incubation in unmodified medium(control) for 2 days $\times$ 100. Most cells had abundant cytoplasm and formed ovoid shape.



**Fig. 5.** An inverted photomicrograph of human oral epitheloid carcinoma cells after incubation in the medium containing  $10^{-4}$  mg/ml concentration of fraction 1 for 2 days $\times$ 200. Some cells were shrunken and number of cells were decreased.



**Fig. 6.** An inverted photomicrograph of human oral epitheloid carcinoma cells after incubation in the medium containing  $10^{-4}$  mg/ml concentration of fraction 3 for 2 days $\times$ 200. Some cells were shrunken and number of cells were decreased.

Table 4 에서 보는 바와 같이, 소엽의 부탄올 분획의 Fraction 1-6에서 MTT정량은 Fraction 1-3은 약 71%로 감소하여 항암활성이 유의성 있게 나타났으나, Fraction 4-6은 약간 높은 75-77%의 인체 구강유상피 암세포에 대한 항암활성을 보였다. MTT정량분석의 결과로 미루어 보아, 소엽의 부탄올 분획의 Fraction 1-3에서 인체 구강유상피 암세포에 대하여 항암활성이 유의한 항암물질이 포함되어 있으리라 사료된다. 세포의 광학현미경적 관찰로 대조군에 있어서는 배양후 48시간째부터 well 바닥에 monolayer를 이룬 다양한 형태의 세포들이 부착되어 있었으며(Fig. 4), Fraction 1(Fig. 5)과 Fraction 3(Fig. 6)  $10^{-4}$  mg/ml 농도를 처리한 군에서는 세포수가 감소하고, 다수의 세포들이 응집하는 경향이었는데, Fraction 2와 3의 형태도 Fraction 1과 유사한 경향이었고, Fraction 3은 Fraction 1에 비하여 퇴행성변화가 적게 나타나는 경향이였다. 소엽메탄올 추출물의 부탄올 분획에서 분리한 미지의 성분이 함유되어 있는 6종의 소분획중 분획 1은 MTT량을 유의하게 감소시켰으므로, 인체 구강유상피 암세포의 활성을 저해하는 물질이 함유되어 있는 것으로 판단되어 앞으로 Fraction 1에 대한 최적분리조건을 확립하여 순수한 화합물을 분리한 후, 이 화합물에 대한 인체 구강유상피 암세포의 항암활성을 측정해야 할 것으로 판단된다.

## IV. 결 론

항암효과가 강한 물질을 소엽 부탄을 분획으로부터 개발하기 위하여, 소엽을 물과 유기용매를 사용하여 추출한 추출물중에서 3T3섬유모세포에 나타나는 세포독성은 메탄올 추출물에서 가장 낮게 나타났으며, 메탄올 추출물 중 부탄을 분획으로부터 얻어진 6종의 소분획을 인체 구강유상피 암세포에 적용하였다. 인체 구강유상피 암세포에서 항암활성은 MTT정량분석법을 이용하였고, 현미경으로 배양된 인체 구강유상피 암세포의 형태적 변화를 관찰하였다.

실험 결과는 다음과 같다.

1. 소엽 부탄을 분획 6종류 중 소분획 1, 2와 3에서 항암활성을 나타냈다.
2. 인체 구강유상피 암세포수는 소엽부탄을 소분획 1, 2, 3과 4로 처리함으로써, 암세포수의 감소와 응집현상이 관찰되었다.
3. 소엽의 부탄을 소분획 1은 인체 구강유상피 암세포에 대하여 가장 강한 항암활성을 보였고, 따라서 더욱 실험이 필요한 선도분획으로 선택되었다.

## 참고문헌

- Aburada, M. (1988): Recent advances in the pharmacology of Kampo medicine, pp.275.
- Cho, K. W. and Kwon, H. B. (1967): Effects of progesterone and dibutyryl cyclic AMP on the RNA and protein synthesis of mouse oocytes and two-cell embryos in vitro. *Proc. Cell Natur. Sci.*, **SNU 1**, 107-118.
- Chung, Y. T., Park, S. T., Mun, J. Y., Kim, J. M., Choi, M. K., Han, D. S. and Kim, J. B. (1987): Cytotoxic effects of actinomycin D, adriamycin and puromycin in the developmental stage of early mouse embryos. *J. Wonkwang Medical Sci.*, **3**, 13-34.
- Ellem, K. O., and Gwatkin, R. B. L. (1968): Patterns of nucleic acid synthesis in the early mouse embryos. *Devel. Biol.* **118**, 311-330.
- Gillman, A. G., Rall T. W., Nies, A. and Talyor P. (1991): Goodman Gilman's: The pharmacological Basis of Thrapeutics, Maxwell Macmillan, 18th, pp.1202.
- Hersh, E. M. and Ereish, E. T. (1986): In Methods in Cancer Reseach, New York, Academic Press, pp. 335.
- Kawamura, H., Takemoto, N., Maruyama, H. Komatsu, Y., Aburada, M. and Hosoya, E. (1988): Recent advances in the pharmacology of Kampo medicine, pp.291.
- Molinaro, M., Siracusa, G. and Monesi, V. (1972): Differential effects of metabolic inhibitors on early development in the mouse embryos at various stage of the cell cycle. *Exp. Cell Res.* **71**, 261-264.
- Mosmann, T. (1983): Rapid colorimetric assays for cellular growth and survial: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, **65**, 55-63.
- Seo, J. D., Lee, D. K. and Um, I. W. (1992): An experimental study of the cytotoxic effects of cis-diamine-dichloroplatinum (cisplatin) and vincristine on cultured human oral fibroblast. *J. Wonkwang Dental Research Institute* **2**, 55-68.
- Skehan, P., Storeng, S., Studiero, D., Monke, A., McMahan, J., Vistica, D., Wamen, J. T., Bodesh, H., Kenny, S. and Boyd, M. R. (1990): New colorimetric cytotoxicit assay for anticancer-drug screening. *National Cancer Institute*, **82**, 1107-1112.
- Takahashi, K., Fujita, Y. Mayumi, T. Hanma and T. Kishi (1987): Effects of adriamycin cultured mouse embryo myocardial cells. *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 326-334.
- Takemoto, N., Maruyama, H., Kawamura, H., Komatsu, Y., Aburada, M., Hosoya, E., Yamada, H., Kiyohara, H. and Cyong, J. C. (1988): Recent advances in the pharmacology of Kampo medicine. pp.345.
- Tompson, J. and Biggers, J. D. (1966): Effects of inhibitors of protein synthesis on the devlopment of preimplantation mouse embryos. *Exp. Cell Res.* **41**, 411-427.
- Yamazaki, M., Ueda, H., Fukda, K., Okamoto, M. and Yui. S. (1992): Priming effects of vegetable juice on endogeneous products of tumor necrosis factor. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 149.
- 박정희 (1996): 소엽의 메탄올 분획이 인체 구강유상피 암세포에 미치는 항암효과. 원광대학교 석사학위논문.
- 한두석, 유현경, 백승화 (1994): 소엽의 메탄올 분획이 피부 암세포에 미치는 항암효과. *대한구강 해부학회지*, **18**, 19-26.
- 한두석, 정병호, 유현경, 김영옥, 백승화 (1994): 소엽의 세포독성 및 항암작용에 관한연구. *한국 생약학회지* **25**, 249-257.