

L1210 및 P388D₁ 세포에 대한 고삼 에틸 아세테이트 추출물의 세포독성에 관한 연구 (III)

류홍선, 신민교, 양은영,* 조 훈,* 채규윤,** 강길웅,*** 백승화****#

원광대학교 한의과대학 본초학교실, **화학기술·생명과학부,

***한의학전문대학원 천연물학교실, *건일제약(주) 중앙연구소

Studies on the Cytotoxicity of the Ethyl Acetate Soluble *Sophora flavescens* Ait. Extract against L1210 and P388D₁ Cells (III)

Hong Sun Ryu, Min Kyo Shin, Eun Yeong Yang,* Hoon Cho,* Kyu-Yun Chai,**

Kil Ung Kang*** and Seung Hwa Baek***

Department of Herbalogy, School of Oriental Medicine,

**Division of Chemistry Technology & Biological Science, College of Natural Sciences,

***Department of Natural Products, Professional Graduate School of Oriental Medicine,

Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea. *Kunhil Pharmaceutical Co., Ltd.

Chunan, Chungnam 330-810, Korea.

Abstract – This study was carried out to evaluate cytotoxic effects of the roots of *Sophora flavescens* Ait. extracts on murine leukemia tumor cells lines (P388D₁ and L1210). Disruptions in cell organelles were determined by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay. The comparison of IC₅₀ values of the ethyl acetate of *Sophora flavescens* Ait. extract in leukemia cell lines showed that their susceptibility to these extracts decreased in the following order : Adriamycin > Fr. 4 > Fr. 5 > Fr. 3 > Fr. 1 > Fr. 2 by the MTT assay. These results suggest that the fraction 4 of the ethyl acetate soluble extract of *Sophora flavescens* Ait. may be a valuable choice for the studies on the treatment of murine leukemia cell lines.

Key words – *Sophora flavescens* Ait. MTT assay; P388D₁ cells; L1210 cells.

苦蓼은 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생 초본인 도독놈의 지팡이(*Sophora flavescens* Ait., *S. angustifolia* S. et Z.)의 뿌리를 건조한 것으로, 한방에서는 이노, 해열, 항균, 항trichomonas 작용에 사용되어 왔으며, 임상적으로 습진, 피부화농증, 여성의 음부소양 등의 피부병에 대하여 외용하며, 또한 세균성이질, 장염에는 고삼, 감초, 목향을 물에 달여서 복용하면 효과가 있다고 하였다. 주요 성분으로는 alkaloid 1-2%와 flavonoid 약 0.5% 등이 함유되었다고 보고하였다.¹⁻³⁾ 근래의 보고에 "苦蓼의 람브리아 (남씨가제) 편모충 Giardia, lamblia에 대한 효과,^{4,5,6,7,8,9,10)} "Stress성 궤양발생 예방효과,^{11,12,13,14)} 동물실험결과 항종양작용으로 "Mouse의 육유 S-180,^{11,15-17,12,6,18,19,20,21)} 자궁경암

14(U-14)^{16,12,18,21)} 및 Ehrlich암주,²¹⁾ 육유 S-37,^{16,18)} 복수형육유 S-180,¹⁶⁾와 애씨복수암(ECA)^{11,15-17,12,20)}에 대한 일정한 억제작용등이 있음"이 확인되어 그 유의성이 있음을 기대 하였다. 이에 본 연구는 고삼에서 세포독성이 있는 물질을 찾아내기 위하여 물과 몇가지 유기용매를 사용하여, 고삼의 에틸 아세테이트 추출물을 컬럼 크로마토그래피법으로 분리한 후, 재현성이 높고 자동화가 가능하며 대량검색이 용이한 MTT 분석법을 이용하여 세포독성을 측정하여, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에서 사용한 고삼은 원광대학교

한의학대학 한방병원에서 구입하여 외부형태를 비교 조사하여 확인 후 사용하였다. 실험에 사용된 식물체는 원광대학교 한의학 전문대학원 천연물학교실에 보관되어있다.

실험기기 - CO₂ incubator (NUAIRE), Deep freezer (Ilshin), Nitrogen freezer (MVE, XC34/14), Elisa reader (Molecular devices, spectra MAX 340), Microscope (Olimpus, CK2), Micropipette (Gilson), 96 well (Falcon), Conical tube (Falcon). 분석시 사용한 thin layer chromatography (TLC)는 silica gel plate (0.25 mm, polygram sil N-HR/UV₂₅₄, E. Merck)를 사용하였으며, UV lamp (model UVG-11, USA), Flash chromatography 사용시 glass column (15 mm×250 mm)를 사용하였다.

시약 - FBS (Fetal bovin serum), RPMI medium 1640, antibiotic-antimyzolic, *hepes*, L-glutamine, D-PBS (Dulgecos phosphate buffer solution), HBSS (Hanks' balanced salt solution) 등은 Gibco 제품을 사용하였으며, Dimethylsulfoxide, 0.4% tripan blue solution, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromide, SDS (sodium dodecyl sulfate) 등은 Sigma 제품을 사용하였고, Adriamycin, silica gel (Kieselgel 60, 230~400 mesh)과 sand는 Aldrich제품을 사용하였으며, 추출 및 분리에 사용된 methanol, chloroform, ethyl acetate, *n*-hexane, H₂O는 증류 정제하여 사용하였다.

검액조제 - 본 연구에 사용한 고삼은 원광대학교 한의학대학 한방병원에서 구입한 것을 검정받아 고삼의 뿌리를 잘게 썰어 20 g을 300 ml 둥근 플라스크에 1차 증류수 100 ml 넣고, 100°C에서 3시간 동안 물 증탕하여 환류추출하였다. 이와같이 세번 반복 추출하여 얻은 추출물을 0.4 μm 필터로 여과한 후, 여과액을 증류기로 35°C에 감압농축시킨 후 냉동건조하였다. 건조된 양은 물 추출물 2,386 mg과 메탄올 추출물 3,764 mg을 얻었다. 핵산, 에틸 아세테이트, 클로로 포름, 메탄올 추출물은 상온에서 24시간 동안 위의 방법에 따라, 용매를 감압농축하여 핵산 추출물 310 mg, 에틸 아세테이트 795 mg, 클로로 포름 612 mg, 메탄올 추출물 2,641 mg을 얻었다.

분획 - 고삼의 에틸 아세테이트 추출물 3.0 g을 10 ml 둥근 플라스크에 넣고, 에틸 아세테이트 (3 ml)을 넣어 녹인 후, 실리카 겔 (6.0 g)을 넣어 용매를 감압 증류시키어 제거시킨다. 이때 coating된 고삼의 에틸 아세테이트 추출물을 실리카 겔 (30.0 g)이 충전된 컬

럼 크로마토그래피에 넣어 전개용매로 용리시키어 분획을 얻는다. 위의 방법에 따라, 용매를 감압농축하여 분획 1, 213 mg, 분획 2, 45 mg, 분획 3, 875 mg, 분획 4, 98 mg, 분획 5, 1,717 mg을 얻었다.

시료의 처리 - 조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였다가 사용직전에 배지로 10² mg/ml - 10⁶ mg/ml 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

세포독성능 측정을 위한 세포주 - 암세포 성장억제능 측정을 위해 사용한 L1210과 P388D₁은 mouse 유래 암세포주로서 L1210은 lymphocytic leukemia이며 P388D₁은 lymphoid neoplasma이다. 세포독성능 측정을 위한 세포주는 서울대학교 세포주은행에서 분양 받아 실험실에서 계대배양하면서 실험하였다.

세포배양배지 - 세포배양에 사용된 배지는 L-glutamine 포함된 RPMI-1640에 NaHCO₃ (2 g, 23.81 mmol)을 혼합한 후, 3차 증류수에 녹인 다음 membrane filter (0.2 μm)로 여과한 후, 여액에 56°C에서 30분간 inactivation 시킨 우태아 혈청 FBS를 전체양의 1%가 되도록 혼합한 다음, 1N NaOH와 1N HCl을 사용하여 pH 7.2가 되도록 하였다.

세포배양 - 세포독성능 측정에 사용된 부유세포 (suspension cell)인 L1210, P388D₁은 위에서 제조한 세포배양배지를 사용하여, 세포의 지수적 성장 (exponential growth)을 유지하도록 37°C, 5% CO₂ incubator에서 2~3일간 배양한 후, conical tube (falcon)에 옮겨 1500 rpm에서 5분간 원심분리하여 세포침전물을 분리하였다. 분리된 세포침전물을 다시 D-PBS에 부유시켜 원심분리한 다음, 상등액을 제거하여 세포만을 취하였다. 동일한 방법으로 반복 세척한 후, 일부를 취하여 0.4% trypan blue을 가하여 염색되지 않은 살아있는 세포를 haemocytometer로 세어 5×10⁵ cells/ml의 농도가 되도록 새로운 배지에 부유시켜 배양하여 실험에 들어갔다.

MTT assay - 암세포에 대한 세포독성능 측정은 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide] 비색 검정법으로 실험하였다.²²⁻²⁴⁾ 암세포에 대한 세포독성능을 측정하기 위해, 96 well flat bottom microtiter의 각 well에 logarithmic phase에 도달한 암세포 L1210, P388D₁을 2×10⁵ cells/ml 농도로 100 μl/well씩 접종하고, 각각의 검체를 단계 희석하여 10 μl/well 각 well에 첨가하고, 37°C, 5% CO₂ incubator 조건하에서 4시간 동안 배양한 후, 형성된 불용성 formazan crystal products를 용해시키기 위하여, 10% SDS를 함유한 0.01N HCl 용액을 각 well

당 150 µl씩 가해 37°C, 5% CO₂ incubator 조건하에서 1일간 배양하여, ELISA reader (Molecular Devices spectra MAX 340)로 MTT의 흡광도 (540 nm)를 측정하여 IC₅₀값을 구하였다. 비교약물로는 adriamycin (일동제약)을 사용하였고, 약물없이 동일한 조건하에서 배양된 세포를 control로 하였다. IC₅₀값은 대조군의 50% 수준으로 암세포의 성장을 억제하는 약물의 농도 (µg/ml)로 주어지며, 미국 암 연구소 (NCI; National Cancer Institute, USA)의 manual 방법에 의해 결정하였다.²³⁾

세포의 광학현미경적 관찰 - 광학현미경으로 세포를 관찰하기 위하여, L1210 및 P388D₁세포는 MTT 정량을 하기전에 도립현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

고삼의 뿌리를 잘게 썰어 20 g을 물로 추출하여, 물 추출물 2,386 mg (11.93%), 크로로포름 추출물 612 mg (3.06%), 메탄올 추출물 2,641 mg (13.21%), 에틸 아세테이트 추출물 795 mg (3.98%), 헥산 추출물 310 mg (1.55%), hot 메탄올 추출물 3,764 mg (18.82%)을 얻었다. 여기서 물과 메탄올의 추출물의 수율이 많은 것으로 보아, 극성이 큰 용매에 생리활성물질이 많이 추출됨을 알 수 있다.

고삼 (*Sophora flavescens* Ait., *S. angustifolia* S. et Z)의 뿌리로부터 물과 몇가지 유기용매를 사용하여 추출된 추출물에 대한 세포독성의 결과 (Table I)에 의하면, 마우스의 백혈병 세포인 L1210 세포에 대하여, 고삼의 뿌리 추출물은 비교약물인 adriamycin 보다 약한 세포독성 발현이 나타났다. MTT 분석법에 의하면, 추출물 중에서 에틸 아세테이트 추출액은 IC₅₀, 8.25 µg/ml 값으로 가장 강한 세포독성 발현을 관찰할 수 있었다. 이들 추출물은 마이크로그램농도의 농도범위에서는 투여량에 따라 세포독성을 보였다. 비교약물인 adriamycin으로 L1210세포에 대한 고삼 추출물의 세포독성에 대한 비교는 다음과 같은 순서로 세포독성이 감소하였다. MTT 분석법에 의하면, AM > EASF > CFSF > HMTSF > WSF > MTSF > HXSF 순으로 정량분석값을 얻을 수 있었다. 고삼 추출액을 MTT 분석법으로, P388D₁ (murine leukemia cells) 세포에 대하여 성장억제효과를 평가하였다. MTT 분석법에 의하면, 모든 추출물이 비교약물인 adriamycin (IC₅₀ 0.03 µg/ml)보다 낮은 항암활성을 나타냈다. 이들 추출물 중에 에틸 아세테이트 추출물은 IC₅₀ 4.13

Table I. The antitumor activities of aqueous and organic solvents of extracts of *Sophora flavescens* Ait. Comparison of IC₅₀ for aqueous and organic solvents of extracts of *Sophora flavescens* Ait. by MTT assay

Sample ^a	IC ₅₀ (µg/ml) ^b	
	Murine lymphocytic leukemia cells (L1210)	Murine leukemia cells (P388D ₁)
WSF	28.62	150.00
MTSF	36.92	11.10
CFSF	13.38	7.78
EASF	8.25	4.13
HXSF	56.33	23.44
HMTSF	20.67	29.18
AM	0.02	0.03

Plant extracts; WSF; Water extract of *Sophora flavescens* Ait.; MTSF; Methanol of *Sophora flavescens* Ait.; CFSF; Chloroform extract of *Sophora flavescens* Ait.; EASF; Ethyl acetate extract of *Sophora flavescens* Ait.; HXSF; Hexane extract of *Sophora flavescens* Ait.; HMTSF; Hot methanol extract of *Sophora flavescens* Ait.; AM; Adriamycin

^{a)} Each extract was examined in triplicate experiments (mean ± standard deviation (n=3)).

^{b)} IC₅₀ represents the concentration of an extract required for 50% inhibition of cell growth.

µg/ml 값으로 가장 강한 항암활성을 갖는 생리활성물질이 함유되어 있으리라 생각된다. 이 에틸 아세테이트 추출물은 마우스의 백혈병 세포인 L1210세포에 대하여 가장 강한 세포독성 발현을 나타냈다. P388D₁ 세포에 대한 고삼추출물의 비교약물인 adriamycin에 대한 항암활성에 대한 비교는 다음과 같은 순서로 항암활성이 감소하였다. MTT 분석법에 의하면, AM > EASF > CFSF > MTSF > HXSF > HMTSF > WSF 순으로 정량분석값을 얻을 수 있었다.²⁴⁾ 고삼의 용매추출물중에 클로로포름 추출물과 에틸 아세테이트 추출물은 L1210과 P388D₁ 세포에 대한 세포독성 발현이 유의성이 있었으나, 메탄올 추출물은 P388D₁ 세포에만 세포독성발현의 유의성을 관찰할 수 있었다. 그러나 나머지 용매추출물은 L1210 과 P388D₁ 세포에 대하여 세포독성발현의 유의성을 관찰할 수 없었다.²⁵⁾ 연구결과에 의하면, 에틸 아세테이트 추출물은 L1210 세포에 대하여 강한 세포독성을 나타냈으며, P388D₁ 세포에 대하여 가장 강한 성장억제 활성을 관찰 할 수 있었다. 이에 고삼 에틸 아세테이트 추출물의 P388D₁ 세포에 대한 항암물질이 함유되어 있을 것으로 판단 된다.

고삼의 뿌리로부터 에틸 아세테이트를 사용하여 추

출된 추출물을 실리카 관 flash chromatography로 분리하여 분획을 얻었다. 이들 분획 1, 213 mg (7.1%) 분획 2, 45 mg (1.5%), 분획 3, 875 mg (29.2%), 분획 4, 98 mg (3.3%), 분획 5, 1,717 mg (57.2%)을 얻었다. 여기서 고삼의 뿌리로 부터 에틸 아세테이트를 사용하여 추출된 추출물을 실리카 관 flash chromatography로 분리하여 얻은 분획 5의 수율이 가장 많은 것으로 보아, 이 분획에 사용된 전개용매가 극성이 큰 에틸 아세테이트와 메탄올을 사용하여 용리하였기 때문에 분획 5에 많은 양의 생리활성물질을 얻을 수 있었다.

고삼의 뿌리로부터 에틸 아세테이트를 사용하여 추출된 추출물을 실리카 관 flash chromatography로 분리하여 분획을 얻었다. 이와같이 얻은 분획에 대한 세포독성의 결과에 의하면 (Table II), 마우스의 백혈병 세포인 L1210세포에 대하여, 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획은 비교약물인 아드리아마이신보다 약한 세포독성 발현이 일어났다.²⁴⁾ MTT 분석법에 의하면, 분획 중에서 분획 5은 IC₅₀, 8.24 µg/ml 값으로 가장 강한 세포독성 발현을 관찰 할 수 있었다. 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획은 마이크로그랩농도의 농도범위에서는 투여량에 따라 세포독성을 보였다. 비교약물인 adriamycin으로 L1210 세포에 대한 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획의 세포독성에 대한 비교는 다음과 같은 순서로 세포독성이 감소하였다. MTT 정량분석법에 의하면, 분획 5>분획4>분획3>분획1>분획 2 순으로 분석값을 얻을 수 있었다. 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획을 MTT 분석법으로, P388D₁ (murine leukemia cells) 세포에 대하여 성장억제효과를 평가하였다. MTT 분석법에 의하면, 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획이 비교약물인 adriamycin (IC₅₀ 0.03 µg/ml)보다 낮은 항암활성을 나타냈다. 이들 고삼의

에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획 중에 분획 5는 IC₅₀ 8.24 µg/ml 값으로 가장 강한 항암활성을 갖는 생리활성물질이 함유되어 있으리라 생각된다. 이 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획 중에 분획 5는 마우스의 백혈병 세포인 L1210세포에 대하여 가장 강한 세포독성 발현을 나타냈다. P388D₁ 세포에 대한 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획의 비교약물인 adriamycin에 대한 항암활성에 대한 비교는 다음과 같은 순서로 항암활성이 감소하였다. MTT 분석법에 의하면, 분획 4>분획5>분획 3>분획 1>분획 2 순으로 분석값을 얻을 수 있었다.

본 연구결과에 의하면, 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획 중에 분획 5는 L1210세포에 대하여 가장 강한 세포독성을 나타냈으며, P388D₁세포에 대하여 강한 성장억제 활성을 관찰 할 수 있었다. 또한 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획 중에 분획 4는 L1210세포에 대하여 분획 5 보다 세포독성은 약하게 나타냈으나, P388D₁세포에 대하여 분획 5 보다 강한 성장억제 활성을 관찰 할 수 있었다. 따라서, 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획 중에 분획 4와 5에 대한 최적분리조건을 확립하여 순수한 화합물을 분리한 후, 이 화합물에 대한 P388D₁세포의 항암활성을 측정해야 할 것으로 판단된다.

결 론

고삼 (*Sophora flavescens* Ait. *S. angustifolia* S. et Z.)의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획을 MTT 분석법으로, 마우스의 백혈병 세포인 L1210세포에 대하여 세포독성효과를 평가하였다. 이들 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획은 마이크로 그랩 농도의 범위에 대하여 세포독성을 나타내었으며, 마우스의 백혈병 세포인 L1210세포에 대한 이들 에틸 아세테이트

Table II. The antitumor activities of fractions of the ethyl acetate soluble extract of *Sophora flavescens* Ait. Comparison of IC₅₀ for fractions of the ethyl acetate soluble of extract of *Sophora flavescens* Ait. by the MTT assay^a

Fraction Mobile phase	IC ₅₀ (µg/ml) ^b					AM	EASF
	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	Fr. 4	Fr. 5		
Cell	100 % Hx, 5% EA/Hx	5,7,10% EA / Hx	10, 40% EA / Hx	40, 60% EA/Hx	60, 80, 90 % EA / Hx, 100% EA, 100% MeOH		
L1210	42.81	83.01	15.21	15.05	8.24	0.02	8.25
P388D ₁	26.32	50.53	8.00	3.48	6.00	0.03	4.13

Plants extracts; EASF; Ethyl acetate extract of *Sophora flavescens* Ait.; AM; Adriamycin

^{a)} Each extract was examined in triplicate experiments (mean ± standard deviation (n=3)).

^{b)} IC₅₀ represents the concentration of an extract required for 50% inhibition of cell growth.

트 추출물에 대한 분획 5는 비교약물인 아드리아마이신에 대한 IC_{50} 8.24 $\mu\text{g/ml}$ 분석값으로 가장 강한 세포독성 발현을 관찰 할 수 있었다. P388D₁ 세포에 대한 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획의 비교약물인 아드리아마이신에 대한 항암활성에 대한 비교는 다음과 같은 순서로 항암활성이 감소하였다. MTT 분석법에 의하면, 분획 4>분획5>분획3>분획1>분획 2 순으로 분석값을 얻을 수 있었다. 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획 4는 IC_{50} 3.48 $\mu\text{g/ml}$ 분석값으로 P388D₁ 세포에 대한 가장 강한 항암활성을 나타내었다. 따라서, 고삼의 에틸 아세테이트 추출물에 대한 분획 중에 분획 4와 5에 대한 최적분리조건을 확립하여 순수한 화합물을 분리한 후, 이 화합물에 대한 P388D₁세포의 항암활성을 측정해야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 BK 21 사업지원과 한국과학재단 전라북도청 후원, 의약자원연구센터의 연구지원 (98-16-01-04-A-3)에 의해 이루어 졌으며, 이에 감사한다.

인용문헌

1. 육창수, 김성만, 정진모, 정명숙, 김정화, 김승배 (1995) 한약의 약리성분, 임상응용, 414-416, 계 측문화사, 서울.
2. 신민교 (1986) 임상본초학, 314-315 남산당, 서울.
3. Bensky, D., Gamble, A. and Bensky, L. L. (1986) Chinese Herbal Medicine MATERIA MEDICA. Eastland Press, 117-118.
4. 黎光南 (1990) 雲南中藥志 (第1卷), 336~337 雲南科技出版社, 雲南.
5. 顏正華 (1995) 中藥學, 145~147 人民衛生出版社, 北京.
6. 劉春安, 彭明 (1994) 抗癌中草藥大辭典, 607~612 湖北科學技術出版社, 湖北.
7. 陸昌洙, 鄭明淑, 金成萬, 金定禾, 鄭津牟, 金勝培 (1982) 漢藥의 藥理·成分·臨床應用, 414~416 癸丑文化社, 서울.
8. 江蘇新醫學院編 (1979) 中藥大辭典 (上冊), 1283~1285 上海科學技術出版社, 上海.
9. 崔樹德 (1989) 中藥大全, 279~280 黑龍江科學技術出版社, 黑龍江.
9. Suffness, M., and Pezzuto, J. M (1991) Assays related to cancer drug discovery. In: Houstettmann, K., ed. Assays for Bioactivity. Dey, P. M., Harborne, J. B., series ed. Methods in plant Biochemistry. Vol. 6. London: Academic Press, P. 71-134.
10. 中山醫學院 (1976) 中藥臨床應用, 99~100 廣東人民出版社, 廣東.
11. 中國醫學科學院藥物研究所 (1979) 中藥志 (第1冊), 193~197 人民衛生出版社, 北京.
12. 王本祥 (1997) 現代中藥藥理學, 314~319 天津科學技術出版社, 天津.
13. 顏榮 (1985) 原色生藥學, 172~173 南天書局有限公司, 臺灣.
14. 嚴仲鏡, 李万林 (1997) 中國長白山藥用植物彩色圖志, 254~256 人民衛生出版社, 北京.
15. 徐國鈞 (1996) 中國藥材學, 252~256 中國醫藥科技出版社, 北京.
16. 《中華本草》編委會 (1998) 中華本草, 907~918 上海科學技術出版社, 上海.
17. 王浴生 (1983) 中藥藥理與應用, 637~644 人民衛生出版社, 北京.
18. 常敏毅 (1987) 抗癌本草, 176~177 湖南科學技術出版社, 湖南.
19. 江蘇新醫學院編 (1979) 中藥大辭典 (上冊), 1283~1285 上海科學技術出版社, 上海.
20. 嚴仲鏡, 李万林 (1997) 中國長白山藥用植物彩色圖志, 254~256 人民衛生出版社, 北京.
21. 洪性範 (1990) 臨床抗癌中草藥, 170~172 成輔社, 서울.
22. Mosmann, T. J. (1983) Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival; application of proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 65: 55-63.
23. Keepers, Y. P., Pozao, P. E., Peters, G. T., Otte, J. A., Winograd, B. and Pinedo, H. M. (1991) Comparison of the sulforhodamine B protein and tetrazolium (MTT) assays for *in vitro* chemosensitivity testing. *Eur. J. Cancer* 27: 897-900.
23. a) Goldin, A., Venditti, J. M., Macdonald, J. S., Muggia, F. M., Henney, J. E., Devita, V. T. (1981) Current Results of the Screeing Program at the Division of Cancer Treatment, National Cancer Institute. *Europ. J. Cancer*. 17: 129-142.
- b) Kallmann, R. F. (1985) The Use of Rodent Tumors in Experimental Cancer Therapy. *Cancer Res.* 45: 6541-6545.
24. Carmichael, J., DeGraff, W. G., Gazdar, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. (1987) Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing, *Cancer Research* 47: 936-942.
24. Cho, H., Weon, S.R., Kim, J.S., You, I.S., Ryu, D.G., Kang, K.U., Lee, J.H. and Baek, S.H. (1999). Stud-

- ies on the cytotoxicity of *Sophora flavescens* Ait. extract against L1210 and P388D₁ (II). Kor. J. Pharmacogn. 30 : 351-354.
25. Suffness, M., and Pezzuto, J. M (1991) Assays related to cancer drug discovery. In: Houstettm- ann, K., ed. Assays for Bioactivity. Dey, P. M., Harborne, J. B., series ed. Methods in plant Biochemistry. Vol. 6. London: Academic Press, P. 71-134.

(2000년 1월 10일 접수)