

生藥 藥鍼液이 癌豫防 酵素系에 미치는 影響

임종국* · 문진영* · 조경희* · 손윤희** · 남경수**

Effect of Aqua-acupuncture Solution of Medicinal Plants on Induction of Anticarcinogenic Phase II Enzymes

Jong-Kook Lim* · Jin-Young Moon* · Kyoung-Hee Cho* ·
Yun-Hee Shon** · Kyung-Soo Nam**

*Dept. of AM-Meridian & Pointology, College of Oriental Medicine,

**Dept. of Pharmacology, College of Medicine and Intractable Diseases Research Center,
Dongguk University

Abstract

Induction of phase II enzymes such as quinone reductase (QR) or glutathione S-transferase (GST) is considered a major mechanism of protection against initiation of carcinogenesis. The induction of detoxification enzymes and glutathione were studied with *Lonicerae Flos* aqua-acupuncture solution (LFAS), *Angelicae gigantis Radix* aqua-acupuncture solution (AGRAS), and *Gamdutang* aqua-acupuncture solution (GAS) in murine hepatoma cells grown in microtiter plate wells. LFAS, AGRAS and GAS were potent inducers of QR activity. LFAS was induced about 2.6-fold at concentration of 3×. AGRAS and GAS were also induced about 2.6-, 1.8-fold at concentration of 5×, respectively. In addition, GST activity was increased with LFAS, AGRAS, and GAS. GSH levels were increased about 2-fold with LFAS at concentration of 5×, 1.3-fold with AGRAS at concentration of 3×, and 1.2-fold with GAS at concentration of 5×. These results suggested that LFAS, AGRAS, and GAS may act as blocking agents against carcinogenesis by induction of phase II marker enzymes.

I. 서 론

암에 관련된 제재 개발연구는 발병된 암을 치료할 수 있는 항암제 개발과 암의 진행과정을 저지할 수 있거나 암 발병을 예방할 수 있는 물질 개발 차원에서 이루어지고 있다. 특히 항암제의 독성에 의한 부작용으로 암이 발병하기 전에 막을 수 있는 암 예방 물질(chemopreven-

tive agents)의 개발이 중점적으로 이루어지고 있다.^{1,2)} 암예방 물질은 발암 물질의 대사과정에 변화를 가져오거나 암화 과정(carcinogenesis)시 생성되는 대사물질 또는 대사과정시 생성되는 부산물과 반응하여 상호작용을 일으키거나 특정 효소의 발현 및 기능을 변화시키므로 이러한 특징을 이용하여 암예방 물질을 개발, 조사할 수 있다. 대표적인 것으로 QR, GST

Key Words : Phase II detoxifying enzymes, *Lonicerae Flos* aqua-acupuncture solution (LFAS), *Angelicae gigantis Radix* aqua-acupuncture solution (AGRAS), *Gamdutang* aqua-acupuncture solution (GAS)

* : 동국대학교 한의과대학 경혈학교실

** : 동국대학교 의과대학 약리학교실 및 난치병한양방치료연구센터

활성유도, glutathione생성 등의 측정이 있다.³⁾

QR은 간세포에서 주로 생성되는 phase II enzyme [glutathione S-transferase (GST), UDP-glucuronosyl transferase]의 한 종류로 quinone을 환원시켜 무독(detoxify)하게 만들고 세포내에 유도되어 발암물질에 의해 일어나는 돌연변이(mutation)와 종양효과(neoplastic effect)를 막아주고 발암 물질을 무독하게 하는 역할을 한다.⁴⁻⁶⁾

glutathione은 세포 내에서 다양한 기능을 가지고 있으며 외부의 독성물질이 세포내 침입했을 때 직접 반응하거나 glutathione S-transferase에 의해 독성물질과 결합하여 무독하게 하는 기능을 가지고 있다. 또한 glutathione은 자연적인 항산화제로 발암과정시 세포를 보호한다. glutathione의 전자친화적인 성질은 외부 물질이 DNA와 결합하여 암을 유발하는 것을 막아주며 GST는 유리기(free radical)를 파괴하여 반응성이 높은 산소들로부터 세포를 보호한다고 보고되고 있다.⁷⁻⁸⁾

금은화(*Lonicerae Flos*)는 인동과에 속하는 만성등본인 인동덩굴 *Lonicera japonica* Thunb.의 화관으로 응저, 종독, 악창등에 응용하여 양간청폐, 소종패독, 경락습열, 근골산통의 주치약물로 사용되어 왔다.⁹⁻¹⁰⁾ 금은화(金銀花)의 성분과 관련한 연구는 심¹¹⁾등이 ginnol, sterols 및 glycoside를 보고하였고 chlorogenic acid, flavonoid 화합물 및 tannin을 보고하였다. 금은화 약효에 관한 연구에 강¹²⁾ 등은 금은화의 methanol 추출액은 독성이 거의 없고 수종의 그람 양성 및 그람 음성균에 항균작용이 있고, 손상된 간에 치유효과가 있으며, 항염작용이 있다고 보고하였다. 특히 금은화의 항암효과에 관한 연구는 황¹³⁾이 금은화의 phenolic 성분을 분리하여 인체 암세포에 미치는 영향을 보고한 바 있다.

당귀(*Angelicae gigantis Radix*)는 미나리과에 속한 다년생 참당귀(*Angelica gigas* Nakai)의 뿌리로서 神農本草經에 최초로 수록된 이후로 일체 혈증 치료약물로 응용되어져 오고 있으며¹⁴⁻¹⁵⁾, 안¹⁶⁻¹⁷⁾ 등은 당귀약침액의 항

산화 효능을 보고하였으며 유¹⁸⁾ 등은 당귀 약물의 효능이 癰疽瘡瘍, 卵巢癌, 子宮癌, 乳腺癌, 肝癌, 白血病, 惡性淋巴腺瘤 등의 효능을 보고하였고, 약리작용으로는 자궁기능조절, 면역기능활성화, 항염, 진통, vitamin E 결핍 보충, 항균, 진정 및 심혈관계통에 대한 효능을 보고하였다.¹⁹⁾

감두탕(甘豆湯)²⁰⁻²¹⁾은 解百藥百物毒, 清熱解毒, 消炎, 鎮痙, 止痛, 脚腫, 胎黃, 胎熱, 難產, 脚氣, 浮腫, 三焦消渴, 筋疝 등에 응용되었고 청²²⁾에 의하면 감초(甘草)는 和中以解毒하고 흑두(黑豆)는 散熱以解毒한다고 하였다. 감두의 원료중 하나인 감초는 두과의 다년생 초본식물이며 그 효능²³⁾은 解百藥毒, 五臟六腑의 寒熱邪氣, 堅筋骨, 溫中下氣, 養陰血, 潤肺, 補裨和中, 清熱解毒, 瘡毒, 腫毒, 腫痛, 堅筋骨, 久服輕身延年, 通經脈, 補五勞七傷, 消瘡疽, 降火止痛, 諸般癰疽 등에 활용되었고 유¹⁸⁾ 등은 舌癌, 鼻咽癌, 胃癌, 白血病, 骨髓腫瘤, 腹水癌, 肝癌, 食道癌, 乳腺癌, 髓腔腫瘤, 上皮癌 등에 항암효능이 있다고 보고하였다. 흑두는 콩과 식물의 흑대두(黑大豆)와 흑소두(黑小豆)의 검은 종자로 효능²⁴⁾은 風毒, 脚氣, 黃疸, 癰腫, 瘡毒, 散五臟結積, 一切熱毒, 腹脹, 除痺去腫, 百藥之毒, 消腫, 心痛筋攣, 一切腫毒, 長肌膚, 一切下血, 發腫, 消渴, 風疽瘡疥, 癰腫, 皮膚腫滿, 消腫止痛, 消血結 등에 응용하였다.

이러한 유효한 금은화, 당귀, 감두탕을 약침액으로 제조하여 암예방실험을 착상하게 되었으며 QR 생성 유도, GSH 생성 및 GST 활성화에 관한 실험을 통하여 그 효과를 살펴보았다.

II. 실험재료 및 방법

1. 생약 약침액 제조

본 실험에서 금은화, 당귀, 감두탕 약침액을 제조하기 위하여 동국대학교 부속한방병원에 서 구입한 생약들을 정선하여 사용하였다.

약침액은 수제 알콜침법에 의하여 조제하였다²⁵⁾. 금은화는 금은화 60 g, 당귀는 당귀 60 g,

감두탕은 흑소두와 감초 60 g (1:1)을 조말하여 증류수 400 ml을 가한 뒤 rotary evaporator (BUCHI RE121, Switzerland)에서 3시간 전탕하여 추출하고 여과한 후 4°C, 2,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액 200 ml을 감압농축하였다. 이 농축된 용액에 99.9% ethanol을 가하여 75%, 85%, 95%의 ethanol 용액이 되게 하여 침전물을 여별하고, pH 7.4로 적정한 후 저온에서 24시간 방치하여 membrane filter (0.22 μ m, Whatman, Germany)로 여과한다. 그리고 3차 증류수를 가하여 200 ml이 되게 하여 1×의 약침액으로 사용하였으며 10×, 5×, 3× 약침액은 1×의 약침액을 감압농축하여 사용하였고, 증류수나 phosphate buffered saline (PBS)를 첨가하여 0.1×, 0.5× 농도로 조제하였다.

2. QR 생성 측정

QR 생성 유도 효과는 Prochaska²⁶⁾ 등의 방법에 따라 측정하였다. 1×10^4 개의 Hepa1c1c7 세포 (mouse hepatoma)를 200 μ l의 10% FBS가 첨가된 minimum essential medium eagle's (MEM) 배지에 부유시켜 96-well plate에 접종시키고 CO₂ 배양기에서 24시간 배양 후, 새 배양액 190 μ l와 약침액 (0.1×, 0.5×, 1×, 3×, 5×)을 10 μ l씩 각 well에 가하였다. 세포를 약침액이 첨가된 배양액에서 48시간 배양 후 배양액을 버리고 세포를 용해시켰다. 200 μ l reaction mixture {7.5 ml of 0.5 M Tris-HCl (pH 7.4), 100 mg of bovine serum albumin, 1 μ l of 1.5% tween-20, 0.1 ml of 7.5 mM flavin adenine dinucleotide, 1 ml of 150 mM glucose-6-phosphate, 90 μ l of 50 mM β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP), 300 U of yeast glucose-6-phosphate dehydrogenase, 45 mg 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-di-phenyltetrazolium bromide (MTT), 150 μ l of 50 mM menadione in 150 ml dH₂O}를 각 well에 넣고 5분간 반응 후 0.3 mM dicumarol (in

0.5% dimethyl sulfoxide)과 5 mM potassium phosphate가 들어있는 용액 50 μ l를 첨가하여 microplate reader를 이용하여 630 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. Crystal violet assay

세포수에 대한 QR 생성량을 측정하기 위해 앞 실험과 같이 96-well plate에 Hepa1c1c7 cell을 접종시키고 시료를 처리하여 48시간 배양 후 배지를 버렸다. 0.2% ethanol에 녹아 있는 0.2% crystal violet에 10분간 담근 후 2분간 흐르는 물에 씻어 준다. 0.5% SDS를 50% ethanol에 녹여 각 well에 200 μ l씩 첨가하고 37°C에서 1시간 반응시킨 뒤 630 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4. GSH 생성량 측정

세포내 총 GSH 함량은 Griffith²⁷⁾의 방법을 변형시켜서 96-well plate에서 측정하였다. Hepa1c1c7를 배양하여 생약 약침액에 의한 세포내 GSH의 양을 측정하였다. 1×10^4 의 세포를 200 μ l MEM 배지에 부유시켜 96-well plate에 접종시키고 CO₂ 배양기에서 24시간 배양 후 10 μ l의 각각의 약침액이 포함된 배지 200 μ l를 각 well에 가하였다. 시료처리 후 48시간 뒤 배지를 버리고 phosphate-buffered saline (PBS)로 세번 씻고 세포를 용해시킨 후 40 μ l stock buffer (125 mM sodium-phosphate, 6.3 mM ethylenediaminetriacetic acid, pH 7.4)를 가하고 170 μ l의 reaction mixture {20 μ l의 6mM 5, 5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) in stock buffer, 10 μ l의 glutathione reductase solution (50 units in 10 ml stock buffer), 140 μ l의 the NADPH-generating system {2.5 ml의 0.5 M Tris-HCl (pH 7.4), 330 μ l의 150 mM glucose-6-phosphate, 30 μ l의 50 mM NADP⁺, 100 units의 glucose-6-phosphate dehydrogenase in 50 ml distilled water}와 반응시켰다. 상온에서 5분간

shaking 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 단백질 함량은 GSH 활성 측정을 한 plate와 같이 처리한 plate에서 bicinchoninic acid solution protein kit를 사용하여 측정하였다.

5. GST 생성량 측정

GST α 및 GST μ 를 발현하는 Hepa1c1c7 세포를 사용하여 GST 활성 측정을 하였다²⁸⁾. Hepa1c1c7 세포를 96-well plate의 각 well에 1×10^4 cells을 접종시키고 37°C, CO₂ 배양기에서 24시간 배양 후 새 배양액 190 μ l와 각각의 약침액 (0.1 \times , 0.5 \times , 1 \times , 3 \times , 5 \times)을 10 μ l씩 각 well에 처리하였다. 세포를 약침액이 처리된 배양액에서 48시간 배양 후 PBS로 3회 씻고 freeze-thaw를 3회 반복하여 세포를 용해시켰다. GST 활성 측정을 위해 100 μ l reaction mixture (2.5 mM GSH, 1 mM 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene in 0.1 M potassium phosphate buffer, pH 6.5)를 첨가하고 1분간 shaking 한 후 405 nm에서 3분간 흡광도의 증가를 microplate reader에서 측정하였다. 단백질 함량은 GSH 활성 측정을 한 plate와 같이 처리한 plate에서 binchinoninic acid solution protein kit를 사용하여 측정하였다.

III. 결 과

1. QR 생성에 미치는 영향

금은화의 QR 생성의 유도율을 측정한 결과, 0.1 \times 농도에서 대조군에 비하여 1.2배 증가를 보였으며 3 \times 농도에서 가장 높은 수치인 2.6배의 생성 유도율을 보였다. 당귀 약침액의 경우 0.1 \times 농도에서 대조군에 비하여 1.0배 증가를 보였으며 5 \times 농도에서 가장 높은 수치인 2.6배의 높은 생성 유도율을 보였다. 감두탕 약침액에서는 5 \times 농도에서 가장 높은 수치인 1.8배의 생성 유도율이 나타났다 (Fig. 1).

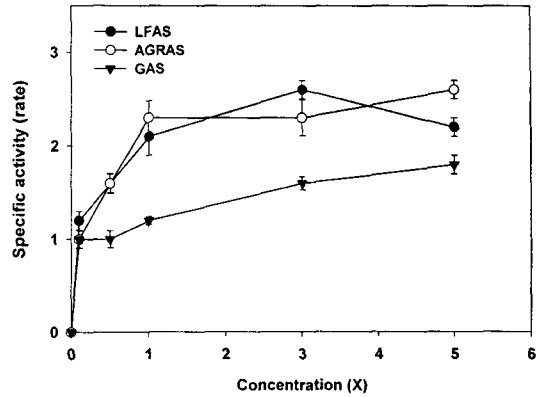


Figure 1. Effect of aqua-acupuncture solution of medicinal plants on induction of quinone reductase activity in murine hepatoma Hepa1c1c7 cells. Cells were treated with aqua-acupuncture solution of medicinal plants for 48 hours and the change in the levels of QR was measured. Each point represents the mean of three separate experiments. LFAS : *Lonicerae Flos* aqua-acupuncture solution, AGRAS : *Angelicae gigantis Radix* aqua-acupuncture solution, GAS : *Gamdotang* aqua-acupuncture solution

2. 세포내 GSH 생성에 미치는 영향

약침액에 의한 glutathione 생성을 살펴본 결과 금은화의 경우, 0.1 \times , 0.5 \times , 1 \times 농도의 약침액을 처리한 세포에서 대조군보다 1.2, 1.3배의 증가를 보이다가 5 \times 에서 가장 높은 수치인 1.6배를 보였다. 당귀 약침액의 경우, 0.1 \times 농도의 약침액을 처리한 세포에서 대조군보다 glutathione level이 1.1배의 증가를 보이다가 3 \times 에서 1.3배가 나타났으며, 감두 약침액의 경우, 0.1 \times 에서 1 \times 농도의 약침액을 처리한 세포에서 대조군과 같은 GSH level을 보이다가 5 \times 에서 1.2배의 수치를 보였다 (Fig. 2). 생쥐에서 유래된 Hepa1c1c7 세포내의 glutathione은 생약 약침액 모두에서 처리하지 않은 대조군 보다 많은 양이 생성되었음을 알수 있다.

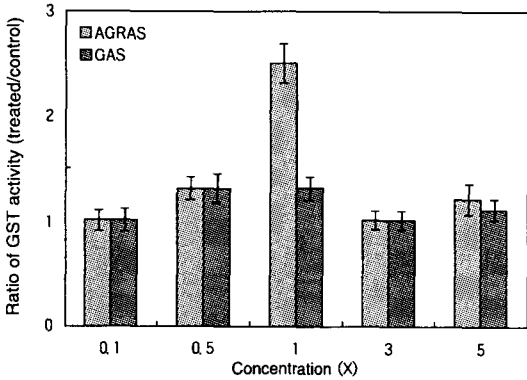


Figure 2. Induction of glutathione levels by aqua-acupuncture solution of medicinal plants in murine hepatoma Hepa1c1c7 cells. Cells were treated with aqua-acupuncture solution of medicinal plants for 48 hrs, and the change in the levels of glutathione was measured. Each point represents the mean of three separate experiments. LFAS : *Lonicerae Flos* aqua-acupuncture solution, AGRAS : *Angelicae gigantis Radix* aqua-acupuncture solution, GAS : *Gamdutang* aqua-acupuncture solution

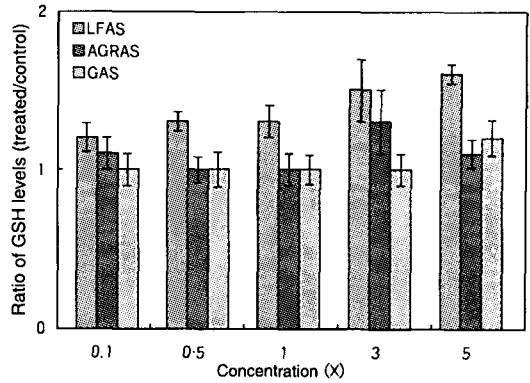


Figure 3. Induction of glutathione levels by aqua-acupuncture solution of medicinal plants in murine hepatoma Hepa1c1c7 cells. Cells were treated with aqua-acupuncture solution of medicinal plants for 48 hrs, and the change in the levels of glutathione was measured. Each point represents the mean of three separate experiments. LFAS : *Lonicerae Flos* aqua-acupuncture solution, AGRAS : *Angelicae gigantis Radix* aqua-acupuncture solution, GAS : *Gamdutang* aqua-acupuncture solution

3. 세포내 GST 생성에 미치는 양향

약침액에 의한 GST 활성도를 관찰한 결과, 당귀 약침액의 경우, 0.1x, 0.5x, 3x, 5x에서 1.0~1.3배 정도의 증가를 나타내다가 1x의 농도에서는 2.5배로 높은 활성을 나타내었으며 감두약침액 경우 1.0~1.3배 정도의 증가를 보였다 (Fig. 3).

IV. 고 찰

암예방은 암화 과정을 연장, 억제시키거나 암화된 것을 전환 (reversion)시키는 작용이다. 현재 암예방 물질에 대한 많이 연구가 진행되고 있으며, 효과적인 암예방 물질 (chemopreventive agents)의 연구를 위해 생화학적 표식자를 사용하고 있다³⁾. 이 표식자들은 암화과정시 발암물질의 대사물질과 그의 부산물과도 반

응하며 다양하고 많은 발암기전을 저해할 수 있는 효과적인 암예방 물질로 간주된다. 이러한 표식자들에는 QR, GSH, GST등이 사용되고 있다. QR은 세포질에 주로 분포되어 있으며⁵⁾, quinones과 quinoneimines를 환원시켜서 세포에 대한 독성을 제거한다²⁹⁾. QR은 GST와 UDP-glucuronosyl transferase와 같이 Phase II enzyme으로 외부의 독성이 있는 물질과 돌연변이원성 발암물질로부터 세포를 보호한다. Phase II enzyme 생성의 유도는, 곧 항암활성 (anticarcinogenic activity)으로 여겨진다³⁰⁾.

금은화, 당귀, 감두약침액을 생쥐의 간암세포 Hepa1c1c7에 처리하였을 때 금은화의 경우, 3x, 당귀와 감두 약침액에서는 5x 농도에서 각각 2.6배, 2.6배, 1.8배의 QR 생성 유도율을 보였고, 농도가 높아짐에 따라 QR 유도율이 농도 의존적으로 유도된 바 생약 약침액은 돌연

변이원성, 발암물질의 대사과정시 생성된 quinone에 의한 세포내 독성 및 세포내 DNA 손상을 없애 주어 발암물질의 종양화효과(neoplastic effect)를 막아 줄 것으로 추측된다.

GSH은 세포내 다양한 기능을 가지고 있으며 특히 독성이 강한 물질을 제거해준다. 대부분의 외부의 화학물질은 cytochrome P-450-dependent monooxygenase system에서 대사되어 전자친화적 물질, epoxides 또는 매우 독성이 강한 물질이 된다³¹⁾. 이 물질들은 GSH과 직접적으로 결합하거나 GST에 의해 촉매되는 과정을 거쳐 결합하기도 한다. 이 반응들은 무독성과정으로 세포내 GSH이 고갈되면 독성이 강한 대사물질들이 만들어져 세포내 손상을 유발시켜 mutagenesis, carcinogenesis를 일으킨다.

금은화, 당귀, 감두약침액은 1.6배, 1.3배, 1.2배의 GSH 생성율을 나타내었고 GST의 경우 당귀 약침액은 2.5배의 높은 GST 생성율을 보였다. 감두 약침액 또한 1.0-1.3배의 생성율을 보였다. 위의 결과로 당귀, 감두약침액은 세포내 GSH 생성을 촉진하여 세포내 발생한 산화물질과 기타의 독성물질을 무독하게 할 것으로 추측된다. Aflatoxin에 의해 유도된 간암에 걸린 쥐에 다량의 GSH를 주었을 때 종양저해작용이 있었으며, butylated hydroxyanisole은 GSH level을 증가시켜 화학물질에 의한 발암을 저해한다고 보고되었다³²⁾. 이에 각각의 약침액에 의해 증가한 GSH은 산화적인 유리기의 공격으로부터 세포를 보호하고 DNA에 결합하는 것을 막아주어 mutagenesis 또는 carcinogenesis를 저해할 것으로 여겨진다.

V. 요 약

금은화, 당귀, 감두를 이용하여 조제한 각각의 약침액을 이용하여 암예방효과를 살펴 보았다. 발암물질을 무독화시키는 QR 생성 유도를 생쥐의 간암세포인 Hepa1c1c7과 측정하였으며, 그 결과 금은화 약침액, 당귀 약침액, 감두약침액을 처리한 Hepa1c1c7에서 QR생성이 유도되

었으며 GSH 생성을 살펴본 결과 Hepa1c1c7 세포에서 실험에 이용된 모든 생약 약침액에 의한 GSH 생성이 증가하였고, GST 생성 또한 증가하였다.

참 고 문 헌

1. Chung, Y.T., Park, S.T., Mum, Y.J., Kim, J.M., Kim, J.J., Choi, M.K., Han, D.S. and Kim, J.B. *J. Wonkwang Med. Sci.* 1987 ; 3, 13.
2. Seo, J.D., Lee, D.K. and Um, I.W. *J. Wonkwang Dental Research Institute* 1992 ; 2, 55.
3. Sheela, S., J. K. Stutzman, G. J. Kelloff, and V. E. Steele. Screening of potential chemopreventive agents using biochemical markers of carcinogenesis. *Cancer Res.* 1994 ; 54 : 5848-5855.
4. Chesis, P. L., D. E. Levin, M. T. Smith, L. Ernster and B. N. Ames. Mutagenicity of quinones : pathways of metabolic activation and detoxification. *Proc. Natl. Acad. Sci. (U,S,A)* 1981 ; 1696-1700.
5. Ernster, L. In Estabrook, R. W. and M. E. Pullman(ed.), *Methods in Enzymology*, Academic Press Inc, New York. 1967 ; 10 : 309-317.
6. Talalay, P., M. J. DeLo and H. J. Prochaska. 1987 ; 197-216. In Cory. J. G. and A. Szentivani(ed.), *Cancer Biology and Therapeutics*, Plenum. New York.
7. Boyland, E. and C. F. Chasseud. The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis *Adv. Cancer Res.* 1979 ; 29 : 175-274.
8. Talalay, P. and H. J. Prochaska, DT-Di-aphorase: A Quinone Reductase

- with Special Functions in Cell Metabolism and Detoxication. 1987 ; 61-66.
9. 康秉秀. 臨床配合本草學, 永林社, 1994 ; 230-233.
 10. 陳榮道. 中藥辭海, 中國醫藥科學出版社, 1996 ; 930-935.
 11. Soon, S. K., Moon, C. K., Ryu, C. K., Cheon, I. S., Chung, J. Ho., Park, D. S.. Ginnol, sterols and glycosides from *Lonicerae Flos*. Seoul Tachakkyo. Yakhak Nonmunjip. 1979 ; 4 : 79.
 12. 강옥희 금은화의 약리작용에 관한 연구. 우석대학교 석사학위논문, 1983.
 13. 황윤정 주엽나무잎 및 금은화의 phenol성 성분. 충북대학교 석사학위논문, 1994.
 14. 李尙仁, 本草學, 서울 : 修書院, 1998 ; 101-102.
 15. 吳普等, 神農本草經, 北京 : 人民衛生出版社, 1984 ; 64.
 16. 安垞徹, 文振榮, 林鍾國, 當歸 藥鍼液의 抗酸化 效能에 관한 研究 I. 大韓鍼灸學會誌, 1996 ; 13(2) : 254-260.
 17. 安垞徹, 文振榮, 林鍾國, 當歸 藥鍼液의 抗酸化 效能에 관한 研究 II. 大韓鍼灸學會誌 1997 ; 14(1) : 383-395.
 18. 劉春安, 抗癌中草藥大辭典, 湖北科學技術出版社, 1994 ; 440-446.
 19. 王浴生, 中藥藥理與應用, 北京 : 人民衛生出版社, 1983 ; 424-434.
 20. 原名, 中醫方劑大辭典, 中醫處方大辭典, 1998 ; 135, 136-150, 435-438.
 21. 江克明, 簡明方劑辭典, 上海科學技術出版社, 1999 ; 257.
 22. 清汪昂, 原本 醫方集解, 서울 : 大星文化社, 1990 ; 146.
 23. 康秉秀, 臨床配合本草學, 서울 : 永林社, 1994 ; 94-97.
 24. 高本釗, 中藥大辭典, 台北 : 新文豐出版公司, 1997 ; 2160-2162.
 25. 김중완, 최혜경, 손윤희, 임종국, 이항우, 남경수. 금은화 약침액의 암예방 효과. 생약학회지 1999 ; 30 (2) : 261-268.
 26. Prochaska, H. J. and A. B. Sanamaria. Direct measurment of NAD(P)H: Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells: A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducers. *Anal. Biochem.* 1988 ; 169 : 328-336.
 27. Habig, W. H., M. H. Pabst and W. B. Jacoby. Glutathione S-transferase : the first enzymatic step mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 1974 ; 249: 7130-7137.
 28. Griffith, O. W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal. Biochem.* 1980 ; 106 : 207-212.
 29. Lind, C., P. Hochstein and L. D. Ernster. T-diaphorase as a quinone reductase : acellular control device against semiquinone and superoxide radical formation. *Arch. Biochem. Biophys.* 1982 ; 216 ; 178-185.
 30. Talalay, P., M. J. DeLo and H. J. Prochaska. 1987 : 197-216. In Cory. J. G. and A. Szentivani(ed.), *Cancer Biology and Therapeutics*, Plenum. New York.
 31. Jollow, D. J. and C. Smith. Biochemical aspects of toxic metabolites formation, detoxification and covalent binding, 1977 ; 42-59, Kocsis, R. Snyder and H. Vainio(ed.), *Biologically Reactive Intermediates*, Plenum Press, New York.
 32. Cerutti, P. A. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 1985 ; 227: 375-381.