

배암차즈기 추출물의 세포독성과 항균효과

신민교 · 김석근 · 이상건 · 강영성 · 김성수 · 양은영¹ · 이현옥² · 백승화^{3,*}
원광대학교 한의과대학 본초학교실, ¹건일제약(주) 중앙연구소, ²원광보건대학 치위생과,
³원광대학교 ³한의학전문대학원 천연물학교실

Cytotoxicity and Antimicrobial Effect of the Extract of *Salvia plebeia*

Min Kyo Shin, Seok Keun Kim, Sang Kon Lee, Eun Yeong Yang,¹
Hyun Ok Lee² and Seung Hwa Baek^{3,*}

Department of Herbalogy, School of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea.

¹Kunhil Pharmaceutical Co., LTD., Chunan Chungnam 330-810, Korea.

²Department of Dental Hygiene, Wonkwang Public Health, Iksan 570-750, Korea.

³Department of Natural Products, Professional Graduate School of Oriental Medicine,
Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea.

Abstract – The comparison of IC₅₀ values of *Salvia plebeia* R. Br. extracts on LI210, P388D₁ cancer and Vero normal cell lines showed that the *n*-hexane soluble extract of *S. plebeia* R. Br. retains the most growth-inhibitory activity against tumor cell lines. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the extract against microorganisms were also examined. Antimicrobial activity of amocla and ketoconazole as references was compared to those of other solvent extracts such as H₂O, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol. The antimicrobial activity of extract had growth inhibition activity against gram-negative bacteria, gram-positive bacteria and fungi (MIC > 200 µg/ml) except for *n*-hexane extract. Seven bacterial strains were tested for *in vitro* susceptibility to the extract of *S. plebeia* R. Br. However the *n*-hexane extract of *S. plebeia* R. Br. inhibited the growth of several bacterial strains (MIC values between 100 and 200 µg/ml for gram positive bacteria, 25 µg/ml for *P. putida*).

Key words – *Salvia plebeia* R. Br., MTT assay, Antimicrobial agent, Minimum inhibitory concentration.

배암차즈기¹⁻²⁾(*Salvia plebeia* R. Br.)는 꿀풀과(唇形科; Labiatae)에 속한 1년생 혹은 2년생 直立草本으로 높이가 15-90 cm로 자라며, 우리나라 전지역의 개울가 황무지 혹은 길가에서 자생한다. 이 식물의 줄기를 荔枝草^{2-6,8-9,11-12)} (*Herba Salviae plebeiae*)라 칭하며, 한약으로 사용할 수 있는 것으로 諸文獻²⁻¹²⁾에 기록되어 있으며, 異名으로는 水羊耳, 過冬靑, 黧皮葱, 癩子草 등이 있다. 이 약은 한의학적으로 性味が 苦辛, 涼하며, 清熱解毒, 涼血散瘀, 利水消腫 등의 효능이 있

어, 感冒發熱, 咽喉腫痛, 肺熱咳嗽, 吐血, 尿血, 崩漏, 痔瘡出血, 腎炎數種, 白濁, 痢疾, 癰腫瘡毒, 濕疹瘙癢, 跌打損傷, 蛇蟲咬傷 등을 치료한다고 하였다.⁶⁾ 이 약의 밝혀진 성분으로는 全草에 flavonoid 즉 homoplantagin, hispidulin, eupafolin, eupafolin-7-glucoside,^{2,8,11)} hispidulin-7-glucoside, nepetin-7-glucoside, homoplantagenin,⁵⁾ nepetrin,⁴⁻⁶⁾ nepetin,⁶⁾ 등을 함유하고, 그 밖에 phenolic 물질, 精油, saponin, 強心配糖體, 不飽和sterol,^{2,8,11)} polyterpene類,^{2,3,11)} 함유한다. 또 種子에는 脂肪油를 함유하고,^{2,8,11)} 다시 4-hydroxyphenyl lactic acid,^{2,6)} protocatechuic acid,^{2,5)} caffeic

*교신저자 : Fax : 063-841-4893

acid⁶⁾도 함유한다고 하였다. 또 이 약의 밝혀진 藥理作用으로는 煎劑의 경우, 二酸化硫黃에 의한 mouse의 咳嗽잡박기를 연장시키지만, 鎳화작용은 없었으며, histamine에 의한 guinea pig의 轉倒時間을 연장시키므로 平喘작용이 있으며,^{2,3,6)} 또 alcohol 추출액은 *in vitro*에서 黃色葡萄球菌, 八連球菌, 枯草菌을 억제하며, 煎劑는 *in vitro*에서 leptospira를 억제시킨다고 하였다.^{2,3,6)}

배암차즈기의 전초로부터 약효를 구명하고자 물, methanol, ethyl acetate, chloroform 및 n-hexane의 추출물을 얻고, 이 추출물을 이용하여 gram 양성균, gram 음성균 및 진균에 대한 항균 및 항진균 활성을 관찰하는 한편, 암 연구에 검색방법으로 많이 이용되고 있는 MTT정량 분석법으로 마우스의 백혈병 세포주인 LI210 세포와 P388D₁ 세포 및 Vero(kidney, african green monkey) 세포에 대하여, 세포독성효과를 관찰한 결과를 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에서 사용한 배암차즈기(N-980518)은 전북 군산시 옥산면 개화도에서 채집하여 외부형태를 비교 조사하여 확인 후 사용하였다. 실험에 사용된 식물체는 원광대학교 한의과대학 본초학교실에 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).

시약 - FBS(Fetal bovin serum), RPMI medium 1640, antibiotic-antimyzolic, HEPES, L-glutamine, nutrient broth(Difco), nutrient agar(Difco), brain heart infusion broth(Difco), brain heart infusion agar (Difco), sabouraud dextrose broth(Difco), sabouraud dextrose agar(Difco), D-PBS(Dulgecos phosphate buffer solution), HBSS(Hanks' balanced salt solution) 등은 Gibco 제품을 사용하였으며, 0.4% Tripan blue solution, dimethylsulfoxide(DMSO), sodium dodecyl sulfate (SDS) 등은 Sigma 제품을 사용하였고, Adriamycin은 Aldrich 제품을 사용하였으며, 추출용매는 시약급을 증류하여 사용하였다.

검역재료 - 배암차즈기의 전초 3g을 100 ml 등근

플라스크에 1차 증류수 30 ml 넣고, 75°C에서 4시간 동안 교반하여 추출하였다. 이와 같이 세 번 반복 추출하여 얻은 추출물을 0.4µm 필터로 여과한 후, 여과액을 증류기로 35°C에서 감압농축시킨 후 냉동건조하여 물 추출물 708 mg을 얻었다. 한편 핵산, 에틸 아세테이트, 클로르포름으로 상온에서 위의 방법에 따라 처리하고, 용매를 감압농축하여 핵산 추출물 77 mg, 에틸 아세테이트 94 mg, 클로르포름 95 mg, 메탄올 추출물 439 mg을 각각 얻었다.

시료의 처리 - 조제한 시료는 즉시 4°C 냉장고에 저장하였다가 사용직전에 에틸알콜로 동량희석하였다. 각각 1:1(µg/ml)로 희석한 시료는 실험농도에 적합하도록 10배 serial dilution을 하여, 10² mg/ml-10⁶ mg/ml 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

사용균주 - 항균 및 항진균 시험용으로 사용된 균주는 국립보건원으로부터 분양 받아 사용하였으며, Table II에 나타낸 바와 같이 gram 양성세균으로는 *Streptococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus mutans* JC-2, gram 음성세균으로는 *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 2421, *Pseudomonas putida* KCTC 8729, 진균으로는 *Candida albicans* KCTC 1940을 사용하였고, 항균 대조약으로 amocla와 항진균 대조약으로 ketoconazole을 사용하였다.

균주의 배양 - 세균배양에 사용된 배지는 세균의 경우, *Streptococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*와 *Escherichia coli*는 brain heart infusion broth를 사용하였고, *Pseudomonas aeruginosa*와 *Pseudomonas putida*는 nutrient broth(Difco)를 사용하였고, 배지에 균을 이식하여 37°C 배양기에서 16~20시간동안 배양하였다. 진균은 Sabouraud dextrose broth를 사용하였으며, 배지에 균을 이식하여 22°C 배양기에서 5~7일 배양하여 사용하였다.

항균 및 항진균력 측정 - 각 용매 추출물에 대한 항균 및 항진균력은 액체배지 희석법^{13,14)}을 이용하여 측정하였다. 각 추출물을 10% DMSO 생리식염수에 용해시킨 후 추출물의 농도를 최고농도 2,000 µg/ml에서 최저농도 3.125 µg/ml까지 2배씩 단계희석 하였다. 희석된 각각의 시료 2.0 ml를 Petri dish에 취하고 여기에 배지 18.0 ml를 섞어 배지가 굳은 다음 배양시킨 균을 백금이로 5 mm정도 도말하여 세균은 37°C 배양기에서 24시간, 진균은 22°C 배양기에서 5~7

일간 배양하였다. 항균시험의 대조약으로는 amocla(건일, amoxicillic sod., clavulanic acid pot.)를 사용하였고, 항진균시험의 대조약으로는 ketoconazole을 각각 사용하였다. 각 배양이 끝나면 집락형성 여부를 관찰하여 성장이 인정되지 않는 가장 낮은 농도를 최소억제농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)¹⁵⁾로 판정하였다.

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

암세포배양배지 - 세포배양에 사용된 배지는 L-glutamine이 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 FBS를 전체양의 1%가 되도록 혼합한 다음, pH 7.2가 되도록 하였다.

암세포배양 - 세포독성능 측정에 사용된 부유세포(suspension cell)인 L1210, P388D₁, Vero는 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 1,500 rpm에서 5분간 원심분리하여 세포 침전물을 분리하였다. 분리된 세포침전물을 다시 D-PBS에 부유시켜 원심분리한 다음, 상등액을 제거하여 세포만을 취하였다. 동일한 방법으로 반복 세척한 후, 일부를 취하여 0.4% trypan blue를 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-2H-tetrazoliumbromide] colorimetric 검정법으로 실험하였다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 암세포에 대한 세포독성능을 측정하기 위해, 96 well flat bottom microtiter의 각 well에 logarithmic phase에 도달한 암세포 L1210, P388D₁와 Vero 세포를 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

0.01 N HCl 용액을 각 well당 150 µl씩 가해 37°C, 5% CO₂ incubator 조건하에서 1일간 배양하여, ELISA reader로 흡광도(540 nm)를 측정하여 IC₅₀ 값을 구하였다. 비교약물로는 adriamycin(일동제약)을 사용하였고, 약물없이 동일한 조건하에서 배양된 세포를 control로 하였다. IC₅₀ 값은 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.¹⁹⁾

세포의 관찰 - 세포를 관찰하기 위하여, L1210, P388D₁, Vero 세포는 MTT 정량을 하기 전에 도립현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

MTT 정량분석법을 이용하여, 배암차즈기(*Salvia plebeia* R. Br.)의 진초로부터 물과 몇 가지 유기용매를 사용하여 추출된 추출물에 대한 세포독성검색의 결과(Table I), 마우스의 백혈병 세포인 L1210 세포에 대하여, 배암차즈기의 추출물은 비교약물인 adriamycin(IC₅₀ 0.015 µg/ml) 보다 약한 세포독성 발현이 나타났다. 추출물 중에서 클로르포름 추출액은 IC₅₀ 9.74 µg/ml 값으로 가장 강한 세포독성 발현을 관찰할 수 있었다. 이들 추출물은 마이크로그램 농도의 범위에서는 투여량에 따라 세포독성을 보였다.²⁰⁾ 비교약물인 adriamycin으로 L1210 세포에 대한 배암차즈기 추출물의 세포독성에 대한 비교는 다음과 같은 순서로 세포독성이 감소하였다. 아드리아마이신 > 클로르포름 추출물 > 핵산 추출물 > 에틸 아세테이트 추출물 > 메탄올 추출물. 배암차즈기 추출액을 P388D₁ (murine leukemia tumor cells) 세포에 대하여 성장억제 효과를 평가하였으나, 모든 추출물이 비교약물인 adriamycin(IC₅₀ 0.017 µg/ml) 보다 낮은 항암활성을 나타냈다. P388D₁ 세포에 대한 배암차즈기 추출물의 비교약물인 adriamycin에 대한 항암활성에 대한 비교는 다음과 같은 순서로 아드리아마이신 > 핵산 추출물 > 클로르포름 추출물 > 에틸 아세테이트 추출물 > 물 추출물순 활성이 감소하였다. 그렇지만, 핵산 추출물은 마우스의 백혈병 세포인 P388D₁ 세포에 대하여 강한 세포독성 발현(IC₅₀ 9.39 µg/ml)을 나타냈다. 세포에 대한 배암차즈기 추출물의 비교약물인 adriamycin에 대한 세포독성에 대한 비교는 다음과 같은 순서로 세포독성이 증가하였다. 메탄올 추출물 > 물 추

Table I. The cytotoxic activities of extracts of *S. plebeia* R. Br. against cell lines

Sample ^a	IC ₅₀ (μg/ml)		
	Mouse lymphocytic leukemia cells (L1210)	Murine leukemia tumor cells (P388D ₁)	Vero cells
WSP	ND	60.56	44.29
MTSP	61.98	ND	110.03
CFSP	9.74	10.53	30.27
EASP	17.23	12.76	31.81
HXSP	9.89	9.39	24.70
AM	0.015	0.017	ND

Plant extracts; WSP; water extract of *S. plebeia* R. Br.; MTSP; methanol extract of *S. plebeia* R. Br.; CFSP; chloroform extract of *S. plebeia* R. Br.; EASP; ethyl acetate extract of *S. plebeia* R. Br.; HXSP; hexane extract of *S. plebeia* R. Br.; AM; adriamycin; ND; Not detected.

^aEach extract was examined in triplicate experiments.

^bIC₅₀ represents the concentration of an extract required for 50% inhibition of cell growth.

출물 > 에틸 아세테이트 추출물 > 클로르포름 추출물 > 헥산 추출물 > 아드리아마이신 순서로 세포독성이 증가하였다. 실험결과에 의하면, 헥산 추출물은 L1210 세포와 Vero 세포에 대하여 강한 세포독성을 나타냈으며, P388D₁ 세포에 대하여 강한 성장억제 활성을 관찰 할 수 있었다(Table I).

배암차즈기를 물과 메탄올, 에틸아세테이트, 클로르포름, methanol을 용매로 사용하여 얻은, 모든 추출물에 대한 최소억제농도는 gram 양성균인 *Streptococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus mutans* JC-2, gram 음성균인 *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 2421, *Pseudomonas putida* KCTC 8729에 대하여는 200 μg/ml 이상의 농도로 나타나, 항균대조군인 amocla의 최소억제농도(<6.25 μg/ml)에 비

해 항균력이 낮은 것으로 나타났다. 진균으로는 *Candida albicans* KCTC 1940에 대하여는 200 μg/ml 이상의 농도로 나타나, 대조군 ketoconazole의 최소억제농도(<6.25 μg/ml)에 비해 항진균력이 낮은 것으로 나타났다. 헥산 추출물인 경우, gram 양성균과 gram 음성균에 대하여는 200 μg/ml 이상의 농도로 나타나, 항균대조군인 amocla의 최소억제농도(<6.25 μg/ml)에 비해 항균력이 낮은 것으로 나타났다. 진균에 대해서도 200 μg/ml 이상의 농도로 MIC가 나타나, 대조군 ketoconazole의 최소억제농도(<6.25 μg/ml)에 비해 항진균력이 낮은 것으로 나타났다. 그러나 gram 양성세균인 *Streptococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus mutans* JC-2에 대하여는 100 - 200 μg/ml, gram 음성세균으로는 *Pseudomonas putida* KCTC 8729에

Table II. Minimum inhibitory concentration (MIC) of *S. plebeia* R. Br. extracted with different solvents^a against various microorganisms

Strains	MIC (μg/ml)						
	Amocla	Ketoconazole	WSP	MTSP	CFSP	EASP	HXSP
<i>S. aureus</i>	< 6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	100
<i>S. mutans</i>	< 6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200
<i>S. epidermidis</i>	< 6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	200
<i>E. coli</i>	< 6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
<i>P. aeruginosa</i>	< 6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
<i>P. putida</i>	< 6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	25
<i>S. typhi</i>	> 200	< 6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
<i>C. albicans</i>	> 200	< 6.25	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200

Plant extracts; WSP; water extract of *S. plebeia* R. Br.; MTSP; methanol extract of *S. plebeia* R. Br.; CFSP; chloroform extract of *S. plebeia* R. Br.; EASP; ethyl acetate extract of *S. plebeia* R. Br.; HXSP; hexane extract of *S. plebeia* R. Br.

^aEach extract was examined in triplicate experiments.

대하여는 25 µg/ml 농도로 높은 MIC가 관찰되었다 (Table II).

배암차즈기의 클로르포름, 에틸 아세테이트, 메탄올, 물 추출물이 gram 양성균과 gram 음성균, 진균에 대하여, 최소억제농도 200 µg/ml 이상으로 활성을 관찰할 수 없었다. hexan 추출물의 경우에는 그람양성균인 *S. aureus*는 100 µg/ml 농도로 *S. mutans*, *S. epidermidis*는 200 µg/ml 농도로 항균력이 나타났으나, gram 음성균인 *P. putida*에 대하여 25 µg/ml 농도로 가장 높은 항균력이 나타났다.²¹⁾

이와 같이 극성이 가장 낮은 용매로 추출한 hexan 추출물이 마우스 유래 암세포주인 L1210 및 P388D₁ 세포에 대한 세포독성물질과 gram 양성균, gram 음성균 및 진균에 대한 항균 및 항진균물질이 함유되어 있을 것으로 판단되어, 이들 추출물에 대한 최적분리 조건을 확립하여 순수한 화합물을 분리해야 할 것으로 판단된다.

결 론

배암차즈기(*Salvia plebeia* R. Br.) 추출물을 MTT 정량분석법으로, 마우스의 백혈병 세포인 L1210 세포와 murine leukemia cell인 P388D₁ 세포 및 Vero에 대하여 세포독성효과를 평가한 결과, hexan 추출물은 IC₅₀ 9.39 µg/ml로 P388D₁ 세포에 대한 가장 강한 항암활성을 나타냈다. L1210 세포에 대한 이들 추출물중에 클로르포름 추출물은 비교약물인 아드리아마이신에 대한 IC₅₀ 9.74 µg/ml로 가장 강한 세포독성 발현을 관찰 할 수 있었다. Vero에 대한 이들 추출물중에 메탄올 추출물은 비교약물인 아드리아마이신에 대한 IC₅₀ 110.03 µg/ml로 가장 낮은 세포독성 발현을 관찰 할 수 있었다. 배암차즈기의 세포독성물질은 hexan 추출물에 대한 함유되어 있으리라 사료된다. 배암차즈기의 hexan 추출물을 제외한 추출물에서는 gram 양성균과 gram 음성균에 대하여는 200 µg/ml 이상의 농도로 나타나, 항균대조군인 amocla의 최소억제농도(< 6.25 µg/ml)에 비해 항균력이 낮은 것으로 나타났다. 진균에 대해서도 200 µg/ml 이상의 농도로 MIC가 나타나, 대조군 ketoconazole의 최소억제농도(< 6.25 µg/ml)에 비해 항진균력이 낮은 것으로 나타났다. hexan 추출물에서는 gram 음성균인 *P. putida*에 대하여 25 µg/ml 농도로 가장 높은 항균력이 나타났으며, 그람양성균인 *S. aureus*는 100 µg/ml 농도로 *S.*

mutans, *S. epidermidis*는 200 µg/ml로 항균력이 나타났다.

사 사

본 연구는 2000년도 원광대학교 교비연구비와 일부 두뇌한국21 사업지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 李昌福(1980) 大韓植物圖鑑, 654, 鄉文社, 서울.
2. 鄭普燮, 辛民教(1990) 圖解鄉藥大典, 862-863, 圖書出版 永林社, 서울.
3. 江蘇新醫學院編(1977) 中藥大辭典, 1614-1616, 上海科學技術出版社, 上海.
4. 徐國鈞(1989) 中草藥彩色圖譜, 910, 福建科學技術出版社, 福建省.
5. 徐國鈞(1996) 中國藥材學, 1549-1550, 中國醫藥科技出版社, 北京.
6. 中醫藥管理局《中華本草》編委會(1998) 中華本草, 1672-1675, 上海科技出版社, 上海.
7. 清·劉善述著, 趙素雲等整理(1988) 草木便方, 157-158, 重慶出版社(重), 重慶.
8. 陳貴廷(1992) 本草綱目通釋, 1205-1207, 學苑出版社, 北京.
9. 清·趙學敏(1963) 本草綱目拾遺, 144-145, 人民衛生出版社(重), 北京.
10. 甘偉松(1981) 藥用植物學, 485-486, 國立中國醫藥研究所, 臺北.
11. 朱有昌(1989) 東北藥用植物, 994-996, 黑龍江科學技術出版社, 黑龍江.
12. 中國藥物大全 編委會(1991) 中國藥物大全 中藥卷, 89-90, 人民衛生出版社, 北京.
13. Moody, M. R., Young, V. M., Morris, M. J. and Schimpff, S. C. (1980) *In vitro* activities of miconazole, miconazole nitrate and ketoconazole alone and combined with rifampin against *Candida* spp. and *Torulopsis glabrata* recovered from cancer patients, *Antimicrob. Agents Chemother.* 17: 871-875.
14. Kuroyanagi, M., Arakawa, T., Hirayama, Y. and Hayashi, T. (1999) Antimicrobial and antiandrogen flavonoids from *Sophora flavescens*. *J. Nat. Prods.* 62: 1595-1599.
15. 이건설 외(1996) 진단병원미생물학, 589-601. 고려의학, 서울.
16. Mosmann, T. J. (1983) Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival; application of proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*

- 65: 55-63.
17. 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.
 18. Carmichael, J., DeGraff, W. G., Gazdr, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. (1987) Evaluation of a tetrazoliumbased semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing, *Cancer Res.* 47: 936-942.
 19. a) Goldin, A., Venditti, J. M., Macdonald, J. S., Muggia, F. M., Henney, J. E. and Devita, V. T. (1981) Current Results of the Screening 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.
 20. Ryu, H. S., Shin, M. K., Cho, H., Yang, E. Y., Chae, K. Y., Kang, K. U. and Baek, S. H. (2000) Studies on the cytotoxicity of the ethyl acetate soluble *Sophora flavescens* Ait. extract against L1210 and P388D₁ cells (III). *Kor. J. Pharmacogn.* 31: 51-56.
 21. Cho, H., Weon, S. R., Yang, E. Y., Kim, J. S., You, I. S., Ryu, D. G., Lee, J. H., Kang, K. U. and Baek, S. H. (1999) Antimicrobial effect of the extract of *Sophora flavescens* Ait (I). *J. Pharm. Soc. Korea* 43: 419-422.

(2001년 1월 17일 접수)