

온백원이 암세포에 미치는 항암활성 효과

이지영¹ · 오혜경¹ · 류한성¹ · 김남재² · 정원용² · 오현아²
최혁재² · 윤성우¹ · 류봉하³

¹ 강동경희대학교병원 한방암센터 한방내과, ² 경희대학교 동서의학연구소 약물연구부

³ 경희대학교 한방병원 비계내과

Abstract

Anti-tumor Activities of Onbaekwon on Various Cancer Cells

Jee Young Lee¹, Hye Kyung Oh¹, Han Sung Ryu¹, Nam Jae Kim², Won-Yong Jung², Hyun-A Oh²,
Hyuck Jai Choi², Seong Woo Yoon¹, Bong-Ha Ryu³

¹ Department of Korean Internal Medicine, Kyung Hee University Hospital at Gangdong

² East-West Medical Research Institute, Kyung Hee University Medical Center

³ Department of Korean Internal Medicine, Kyung Hee University Medical Center

Received 15 November 2015, revised 19 December 2015, accepted 20 December 2015

Objective : The objective of this study was to investigate the experimental efficacy of anti-tumor activity of the complexed herbal formula, Onbaekwon (OBW), which was derived from the literature of Traditional Korean Medicine, Dongeuibogam.

Methods : Nine Cancer cell lines, LoVo, MCF-7, HepG2, AGS, A549, NCI-H69, HL-60, Sarcoma 180, LL/2, were prepared and the cytotoxicity was assessed by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-dephenyl tetrazolium bromide (MTT) assay. Four of them, NCI-H69, HL-60, Sarcoma 180, and LL/2, showed strong cytotoxic activities and they were additionally undergone flow cytometry to find out their effects on apoptosis. ICR male mice were implanted with Sarcoma 180 intraperitoneally and divided into 8 species for each group. Control group was treated with normal saline, positive control group was treated with cyclophosphamide 8mg/kg, and experimental group was treated with OBW 1 g/kg.

Results : Among 9 cancer cell lines, NCI-H69, HL-60, Sarcoma 180, and LL/2, expressed less than 0.10 mg/ml of IC₅₀ under 0.1~1mg/ml of OBW. NCI-H69, HL-60, Sarcoma 180, and LL/2, showed dose-dependent efficacy of apoptosis. When Sarcoma 180 cancer cell was implanted in ICR male mice and treated with the OBW, they prolonged the median overall survival for 0.8 days, from 17.5 to 18.3.

Conclusion : OBW showed strong cytotoxicity to some cancer cells, which are NCI-H69, HL-60, Sarcoma 180, and LL/2, and its apoptotic activity was dose-dependent. OBW prolonged the median survival of mice implanted with Sarcoma 180. Further researches would be expected to support the efficacy of OBW.

Key words : Onbaekwon, Anti-tumor activity, Apoptosis, Herbal medicine, Sarcoma 180

교신저자 : 윤성우, mail: stepano212@hanmail.net, Fax: 02-440-7287, Phone: 02-440-7279, Address: 서울시 강동구 동남로892
최혁재, mail: nicchoi@khmc.or.kr, Fax: 02-958-9531, Phone: 02-958-9539, Address: 서울 동대문구 경희대로23

서 론

악성 종양은 여전히 전세계적으로 최우선순위로 고려되는 보건학적 과제로 더 적은 부작용으로 더욱 효율적인 종양억제를 하고자 하는 노력들은 수십 년째 계속되고 있다. 암의 증식을 억제하는 능력을 가진 후보물질은 여전히 확보될 필요가 있으며 이러한 노력들은 비단 화학복합물 뿐만 아니라 천연물 분야로도 확대되고 있어서 현재까지 천연물에서부터 유도된 물질 중 vincristine, vinblastine 등의 vinca alkaloids, etoposide 등의 podophyllotoxin 유도체, paclitaxel 등의 taxane 계열의 항암제 등은 실제 임상에서도 널리 활용되고 있는 실정이다¹⁾.

이렇게 보건학적으로 적용 가능한 천연물의 탐색에 있어서 한약재로 검증되어 현재 임상에서 사용 중인 물질을 대상으로 기존의 활용범위를 보다 넓히려는 시도나 문헌에 기재된 효과를 재차 검증하고자 하는 노력들이 있어왔다^{2),3)}.

이에 따라 의학서적 등 문헌을 탐색하여 당귀, 황기, 반하, 백출, 천남성, 흑축, 고삼, 오수유 등 다양한 약재 및 처방의 효과를 규명함과 동시에^{4),5)}, 약재나 처방 단위 뿐만 아니라 약재로부터 추출된 성분의 효능 또한 다각적으로 검증되고 있다. 강황에서 분리한 curcumin, 지모의 timosaponin A-1 등이 대표적인 예시이다^{6),7)}.

하지만 현재까지의 천연물의 탐색은 단일 약재 혹은 단일 약재에서 추출한 성분을 위주로 이루어진 것이 대부분이다.

한의학의 문헌에서는 癥瘕, 積聚, 噎膈, 反胃, 癭瘤, 瘰癧 등의 다양한 용어로 악성 종양을 언급하고 있으며 扶正配本法와 攻邪法을 그 치료의 요체로 삼고 다양한 복합처방을 제시하였다⁸⁾. 그중에서도 온백원(溫白元)은 和劑局方, 東醫寶鑑 積聚 通治方 등에서 소개된 처방으로 溫熱한 약성으로 癥瘕積聚를 두루 치료하는 처방으로 알려져 있으며, 실험적으로도 복수암을 유발한 생쥐의 실험에서 종양억제 효과 및 면역기능 증강 효과가 있는 것으로 알려져 있으나 어떤 암에서 효과를 발휘할 것인지에 대한 구체적인 탐색이 되어 있지는 않은 상태이다^{4),9)}.

이에 본 연구에서는 복합처방인 온백원의 효과를 대장암세포인 LoVo, 유방암세포인 MCF-7, 간암세포인 HepG2, 위암세포인 AGS, 비소세포성폐암세포인 A549, 소세포성폐암세포인 NCI-H69, 백혈병 세포인 HL-60, 복강암세포인 Sarcoma 180, 폐암세포인 LL/2 등 각종 암세포주에 세포증식 억제 실험 및 Sarcoma 180 세포를 주입한 동물실험을 통하여 입증하고자 한다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료 및 추출물의 제조

본 실험에 사용된 한약재는 경희 한약 (Wonju, Korea)으로부터 구입하였다. 온백원 (OBW)은 천오炮 250g, 오수유, 길경, 시호, 창포, 자완, 황련, 건강炮, 육계, 파두상, 적복령, 조협灸, 후박, 인삼 각 100g, 천초炒 75g으로 구성되었으며, 80% ethanol 3L을 넣고 100℃로 가열하여 2시간 환류 추출을 2회 반복하였다. 이 추출액을 여과하여 감압농축기 (BUCHI Rotavapor R-220, Switzerland)로 농축한 후, Deep freezer (ILShin BioBase, Korea)를 사용하여

동결 건조하였으며, 수율은 20%였다.

2. in vitro 실험

1) 세포 배양

본 실험에 사용한 대장암세포인 LoVo, 유방암세포인 MCF-7, 간암세포인 HepG2, 위암세포인 AGS, 비소세포성폐암세포인 A549, 소세포성폐암세포인 NCI-H69, 백혈병 세포인 HL-60, 복강암세포인 Sarcoma 180 은 한국 세포주 은행에서 분양을 받았으며, HepG2는 10% FBS (Gibco, U.S.A.)와 1% penicillin-streptomycin (Gibco, U.S.A.)를 첨가한 MEM 배지 (Gibco, U.S.A.)에서, 이 외의 세포는 10% FBS 와 1%

Table 1. The Prescription of Onbaekwon (OBW)

처방약재	생약명	용량(g)
천오	<i>Aconiti Radix</i>	250
오수유	<i>Evodiae Fructus</i>	
길경	<i>Platycodi Radix</i>	
시호	<i>Bupleuri Radix</i>	
창포	<i>Acori Rhizoma</i>	
자완	<i>Asteris Radix</i>	
황련	<i>Coptidis Rhizoma</i>	
건강	<i>Zingiberis Rhizoma</i>	
육계	<i>Cinnamomi Cortex</i>	
파두상	<i>Tiglii Fructus</i>	
적복령	<i>Hoelen</i>	
조협	<i>Gleditschiae Fructus</i>	
후박	<i>Machili Cortex</i>	
인삼	<i>Ginseng Radix</i>	100
천초	<i>Zanthoxyli Fructus</i>	75

penicillin-streptomycin를 첨가한 RPMI 배지 (Gibco, U.S.A.)에서 37°C, 5% CO₂ 농도의 incubator에 배양하였다. 폐암세포인 LL/2는 American Type Culture Collection (ATCC, USA)에서 구입하였으며, 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin을 첨가한 DMEM배지 (ATCC, U.S.A.)에서 37°C, 5% CO₂ 농도의 incubator에 배양하였다.

2) 세포 독성 측정

세포 독성 측정 실험은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)의 환원정도를 측정하는 MTT assay 방법을 사용하여 측정하였다. 각 세포주를 96 well plate에 2x10⁴ cells/well로 seeding 하였으며 24시간 배양한 후, 시료를 0.1~1 mg/ml 농도로 처리하였다. 48시간 동안 배양한 후, 각 well에 1 mg/ml의 MTT 용액 (Sigma, U.S.A.)을 25 µl/ml씩 첨가하여, 37°C, 5% CO₂ 농도의 incubator에서 4시간 배양하였다. 배지를 제거하고 DMSO (dimethyl sulfoxide)를 50 µl/ml씩 첨가하여 생성된 불용성의 formazan 결정을 용해시킨 뒤 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 부유세포인 NCI-H69와 HL-60은 위와 동일한 방법으로 시료를 처리하였으며, EZ-cytox kit (Daeillab Service Co., LTD, Korea)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 유세포 분석

암세포의 세포사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 유세포 분석(Flow cytometry)을 시행하였다. NCI-H69, HL-60, Sarcoma 180 및 LL/2 세포를 6 well plate에 1x10⁵ cells/well로 seeding 하였으며 24시간 배양한 후, 시료를 0.02, 0.10, 0.25 mg/ml 농도로 처리하였다. 24시간 동안 배양한 후, 세포를 회수하여 FITC Annexin V apoptosis detection kit (BD Biosciences, NJ, U.S.A.)을 이용하여 염색하였다. 차광하여 실온

에서 20분간 방치한 후, 유세포 분석기 (FACS Calibur system, BD)를 사용하여 측정하였다.

3. in vivo 실험

1) 실험동물

실험동물은 6주령 된 ICR male mouse (Samtaco Bio Korea, Osan)을 사용하였으며, 온도 22±2°C, 습도 60±10%, 12시간 light-dark cycle의 통제된 사육실에서 식이와 식수는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 반입 후 7일 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물의 관리와 유지 및 모든 실험은 경희의료원 실험동물 윤리위원회의 승인하에 실시되었으며 실험군에 따라 8마리씩 1군으로 분류하여 사용하였다.

2) Sarcoma 180 암세포를 이용한 수명연장효과

Sarcoma 180 암세포를 최종 농도가 1×10⁷ cells/ml이 되도록 암세포 부유액을 만들어 0.1 ml씩 복강에 주사하여 복수암을 유발하였다. 실험동물의 복강 내에 암세포를 주사하고 24시간이 경과한 후부터 실험종료시까지 대조군은 생리식염수를, 실험군은 온백원을 1 g/kg 농도로, 양성대조군은 cyclophosphamide를 8 mg/kg의 농도로 투여하였다. 생리식염수와 온백원은 경구투여하였고 cyclophosphamide는 복강투여하여 4주간 생존여부를 관찰하였다.

4. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과들은 평균 (mean) ± 표준오차 (standard error of measurement, S.E.M)로 표시하였다. 각 군간의 유의성을 검정하기 위하여 분산분석 (ANOVA)을 행한 후 Newman-Keuls test를 실시하였으며, *p*-value가 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판단하였다.

결 과

1. 온백원의 암세포 독성에 대한 효과

온백원의 암세포 증식 억제 효과를 알아보기 위해 대장암세포인 LoVo, 유방암세포인 MCF-7, 간암세포인 HepG2, 위암세포인 AGS, 비소세포성폐암세포인 A549, 소세포성폐암세포인 NCI-H69, 백혈병 세포인 HL-60, 복강암세포인 Sarcoma 180, 폐암세포인 LL/2을 대상으로 MTT assay를 실시하였다 (Table 1). 그 결과, 온백원 1 mg/ml 이하 농도에서 위의 모든 암세포주에 대해 50% 이상의 암세포 증식 억제 효과가 있었으며, 암세포 중에서 특히, NCI-H69, Sarcoma 180 및 LL/2 세포에 대해 IC₅₀ 값이 0.10 mg/ml 이하로 강한 억제 효과를 나타냈다.

2. 온백원의 세포사에 미치는 영향

온백원에 의한 암세포의 증식 억제가 세포사 (apoptosis)에 의한 것인지 알아보기 위해 암세포 증식에 강한 억제 효과를 보인 NCI-H69, HL-60, Sarcoma 180 및 LL/2 세포를 대상으로 온백원을 0.02, 0.1, 0.25 mg/ml 농도로 처리하여 유세포 분석기로 분석하였다 (Figure 1). 그

Table 2. Cytotoxic Effect of OBW on Cancer Cell Lines.

Cancer cell lines	IC ₅₀ (mg/ml)
LoVo	0.42
MCF-7	0.58
HepG2	0.68
AGS	0.44
A549	0.59
NCI-H69	<0.10
HL-60	0.35
Sarcoma 180	<0.10
LL/2	<0.10

* Cells were treated with various concentrations of OBW (0.1~1 mg/ml) for 2 days and cytotoxicity was measured by MTT assay. Data are expressed as IC₅₀ (mg/ml), which is concentration that the cell growth was inhibited by 50%.

결과, 온백원의 농도가 증가할수록 apoptosis 비율이 유의성 있게 증가하였으며, 온백원 0.25 mg/ml 처리시 NCI-H69, HL-60, Sarcoma 180 및 LL/2 세포에 대한 control 대비 apoptosis 비

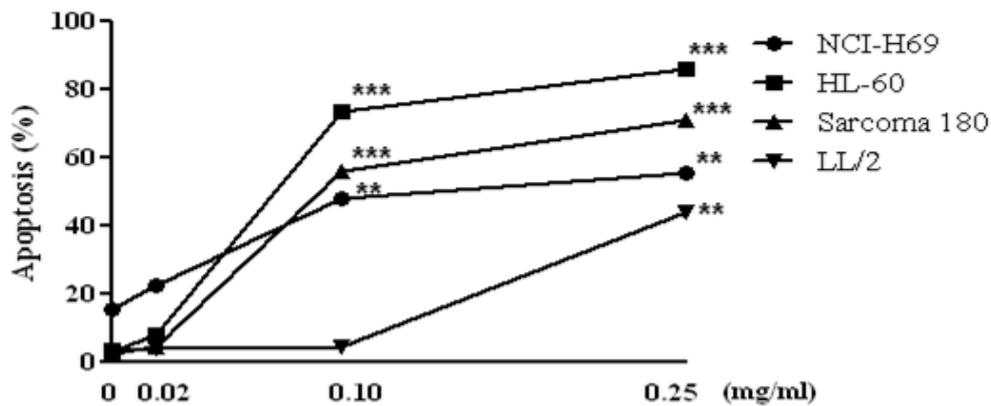


Figure 1. Apoptotic Effect of OBW on Cancer Cell Lines.

* Cells were treated with various concentrations of OBW (0.02, 0.1, 0.25 mg/ml) for 24 h. After cells were stained by annexin V and PI, it was analyzed by flow cytometer. The data are expressed as percentages of apoptosis cells and are mean ± SEM of three experiments. (**p < 0.01, ***p < 0.001 compared to control group (0 mg/ml))

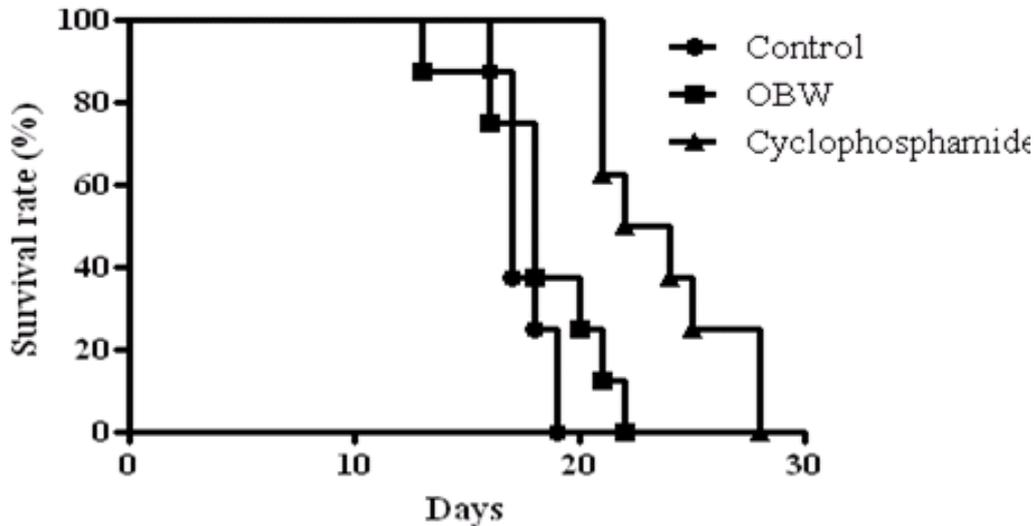


Figure 2. Effect of OBW on the Lifespan of Mice Inoculated with Sarcoma 180 (*i.p.*).

* After the inoculation, normal saline (*p.o.*), OBW (1 g/kg, *p.o.*) or cyclophosphamide (8 mg/kg, *i.p.*) were administrated once daily for the experimental period. Survival of each group (n=8) was observed daily and data are expressed as the percentage of survival for 4 weeks.

율이 각각 39.7, 82.9, 68.6, 40.0% 까지 증가하였

3. Sarcoma 180 수명연장효과

Sarcoma 180 암세포에 대한 항암효과를 측정하기 위하여 mouse 복강에 Sarcoma 180 암세포를 주입하여 복수암을 유발시키고 4주간 생존율을 조사한 결과는 다음과 같다 (Figure 2). 생리식염수를 투여한 대조군은 평균 17.5일에 폐사하였으나, 온백원 1g/kg 투여군에서는 평균 18.3일에 폐사하여 대조군에 비하여 생존일수가 상승하는 경향을 보였으며 약 4.6%의 개선효과를 나타내었다. 양성대조군인 cyclophosphamide를 투여한 군에서는 평균 23.8일 생존함으로써 약 36.0%의 유의적인 개선효과가 있었다.

고찰 및 결론

악성종양이란 생체조직의 일부가 자율적이고 지속적이며 비정상적으로 과잉증식하여 실질장기 및 조직에 비정상적인 생장발육 현상을 야기함으로써 개체와 정상조직의 파괴를 야기하는 질환이다¹⁰. 종양의 정의와 정확하게 대치되는 한의학 용어는 없지만 임상적으로는 噎膈, 反胃, 癥瘕, 癭瘤, 乳巖 등의 용어와 함께 積聚가 종양의 일부 형태들을 서술하고 있는 것으로 인식되고 있다. 한의학에서 서술하고 있는 積聚란 腹內에 結塊가 있어 或痛或脹하는 병증으로 有形으로 固定不移하는 積과 無形으로 聚散無常하는 聚로 구성된 용어로¹¹, 이는 다양한 원인으로 인하여 氣機가 鬱滯不暢하여 濕濁이 모여 痰이 형성된 후 血行이 不暢하여 瘀血이 停留하는 것으로 인하여 形成된다고 하였으며 그 치법으로 扶正配本法과 攻邪法을

기본으로 하였다¹²⁾.

그중 『東醫寶鑑』 積聚 편에서 積聚, 癥瘕, 痰癥, 痺塊를 두루 通治한다고 서술하고 있는 처방인 온백원은 동의보감, 화제국방 뿐만 아니라 『東醫壽世保元』 신축본에서도 少陰人의 積聚를 치료하는 처방으로 기술되고 있다¹³⁾. 임상에서는 이를 바탕으로 하여 자궁내막증으로 인한 소음인의 하혈¹⁴⁾, 소음인 뇌경색 환자의 대변불통이 있을 때 등 다양한 증상에 하복부의 寒積聚를 진단기준으로 보고 용약해 왔다¹⁵⁾. 다만 온백원을 구성하는 약재 중 용량이 다소 많은 편에 해당하는 천오의 경우 부작용 및 독성 보고가 있으므로 용약에 있어 임상의의 판단 하에 적절하게 사용되도록 주의를 요하는 처방이다¹⁶⁾.

전임상 실험 단계에서 온백원은 암세포의 증식 억제 및 지방세포의 증식 억제 효과가 있는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾. 또한 최근 한약재의 분획 추출물의 성분에 대한 보고가 늘어나면서 온백원을 구성하고 있는 개별약재들도 독립적으로 항종양 효과를 보고한 경우가 있었다. 군약인 천오는 melanoma 세포주에서 항종양 활성능력을 보이며¹⁸⁾, 오수유는 evodiamine, rutaecarpine, wuchuyine 등의 alkaloid 등이 있어 예전에는 구충, 항근작용, 치통, 궤양 및 습진 등에 쓰여왔지만 최근 암세포를 이식한 동물실험에서도 평균생존일수 및 생명연장율을 농도 의존적으로 유의하게 연장시킨 바 있으며 항백혈병 작용이 있는 것으로도 보고되었다^{5),19),20)}. 후박의 성분인 honokiol은 유방암, 폐암, 위암을 비롯한 각종 암세포에 있어서 식세포작용 및 세포사를 촉진함으로써 항암효과를 입증하였다^{21),22),23)}. 조합의 추출물인 gleditsioside는 식도암 세포주의 항암활성을 억제하고 신생혈관 생성을 막는 효과가 있으며^{24),25)}, 천초는 전립선암의 세포성장을 억제하고 자멸사를 유도하는 효과가 있다²⁶⁾.

따라서 온백원은 항암활성을 가진 복합처방

일 가능성이 높다고 여겨졌던 바, 본 연구에서는 온백원의 세포독성 및 세포자멸사 효과를 탐색하고 증식억제 및 생존기간 연장의 효과가 있는지 확인하고자 실험을 시행하였다. 그 결과 LoVo, MCF-7, HepG2, AGS, A549, NCI-H69, HL-60, Sarcoma 180, LL/2 세포주 중 소세포성 폐암 세포인 NCI-H69, 백혈병 세포주인 HL-60, 복강암 세포인 Sarcoma 180 및 폐암 세포인 LL/2 세포에서 IC₅₀ 값이 0.10mg/ml 이하로 강한 증식억제 효과를 나타내었으며, 이들을 유세포 분석기로 분석하였을 때 온백원의 농도가 증가할수록 세포자멸사의 비율 또한 유의성 있게 증가하였다. 그러나 생쥐의 복강에 복수암을 유발시켜 4주간 생존율을 조사하였을 때는 온백원 투여군이 생리식염수 투여 대조군보다 평균 0.8일 생존일수가 상승하였으나 양성 대조군인 cyclophosphamide를 투여한 군보다 유의하게 생존 연장효과를 가져오지는 못하였다. 세포주 실험에서 Sarcoma 180보다 우월한 효과를 보였던 HL-60 세포주를 기반으로 재차 실험하거나 보다 고용량의 온백원을 더 큰 규모의 실험군을 대상으로 사용할 경우 유효성을 보다 명확하게 보여줄 수 있을 것이다.

본 논문은 세포실험 및 소규모의 동물실험을 실시하여 그 효과를 파악하고자 한 탐색적 성향의 논문으로 상기 처방은 추후 지속적인 연구를 통하여 인체 안전성 및 유효성에 대한 검증이 보완될 필요가 있다. 또한 앞으로의 연구는 원발암을 폐암, 백혈병, 복강암을 중심으로 압축하여 그 증식억제 효과 및 세포자멸사 효과 등 일련의 항암활성에 대하여 연구하는 것이 타당하다고 사료된다.

Reference

1. Gandhi V, Mehta K, Grover R, Pathak S, Aggarwal BB. Multi-targeted approach to

- treatment of cancer, p. 19-56, USA. Springer Verlag. 2014.
2. 박근형, 김소영, 채희정. 항암소재의 발굴을 위한 한방소재의 선별. *한국생물공학회지*. 2007;22(3):139-45.
 3. 김은혜, 은영아, 강봉주, 성현제, 박갑주. 한약처방제의 인체 위암 세포주에 대한 세포독성 효과에 관한 연구. *생약학회지*. 1997;28(4):233-8.
 4. Liu Y, Xu Y, Ji W, Li X, Sun B, Gao Q, et al. Anti-tumor activities of matrine and oxymatrine: literature review. *Tumour Biol*. 2014;35(6):5111-9.
 5. 차관배, 김윤식, 유호룡, 조현경, 오연선, 설인찬. 오수유 약침의 항암효과에 대한 실험적 연구, *동의생리병리학회지*. 2006;20(5):1261-70.
 6. Ramasamy TS, Ayob AZ, Myint HH, Thiagarajah S, Amini F. Targeting colorectal cancer stem cells using curcumin and curcumin analogues: insights into the mechanism of the therapeutic efficacy. *Cancer Cell Int*. 2015;15:96.
 7. Lee SH, Ryu SY, Choi SU, No ZS, Kim SK, Lee CO, et al. Antitumor agent from the rhizome of *Anemarrhena asphodeloides*. *Kor J Pharmacogn*. 1995;26:47-50.
 8. 김선희, 김상찬, 최종백. 종양의 치법에 관한 실험적 연구: 부정법, 부정거사법, 공사법의 비교연구, *대한한의약방제학회*. 1997;5(1):127-145.
 9. 허준. 동의보감, p. 490-3, 서울. 남산당. 1983.
 10. 서울대학교 의과대학. 종양학, p. 1-5, 43-93, 서울. 서울대학교 출판부. 1996.
 11. 상해중의학원 편. 내과학. p.123-6, 상해. 상해과학기술출판사. 1983.
 12. 박명애, 최원영. 적취에 관한 문헌적 고찰. *대한동의병리학회지*. 1997;11(1):90-9.
 13. 전국한의학대학교. 사상학교실. 개정증보 사상의학. p. 367-77. 서울. 집문당. 2005.
 14. 이필재, 김성기, 송은영, 임은철, 서영민. 자궁내막증으로 인한 소음인 봉루 환자의 온백원을 이용한 치험 1례. *사상체질의학회지*. 2010;22(2):108-14.
 15. 이필재, 한다남, 김성기, 임은철, 김현진. 대변불통의 증상을 가진 소음인 뇌경색 환자에게 온백원을 병용한 치험 2례. *사상체질의학회지*. 2009;21(3):168-77.
 16. 유창길, 권기록. 초오, 천오에 대한 문헌적 고찰. *대한약침학회지*. 2001;4:87-93.
 17. 문성환, 고병희, 송일병. 소양인, 소음인의 처방과 약재가 지방세포(3T3-L1)의 증식, 분화억제에 미치는 영향. *경희한의대 논문집*. 1998;21(1):453-77.
 18. Du J, Lu X, Long Z, Zhang Z, Zhu X, Yang Y, et al. In vitro and in vivo anticancer activity of aconitine on melanoma cell line B16. *Molecules*. 2013;18(1):757-67.
 19. 강탁림, 인체 위암세포주 SNU-1에 대한 수종 한약재의 항암활성, *대전대학교 논문집*. 1995;4(1):445-8.
 20. 배현옥, 임창경, 장선일, 한동민, 안원근, 윤유식, 외. 항백혈병 작용에 관련된 천연물의 자료조사, *동의생리병리학회지*. 2003;17(3):605-10.
 21. Yan B, Peng ZY. Honokiol induces cell cycle arrest and apoptosis in human gastric carcinoma MGC-803 cell line. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(4):5454-61.
 22. Lv X, Liu F, Shang Y, Chen SZ. Honokiol exhibits enhanced antitumor effects with chloroquine by inducing cell death and inhibiting autophagy in human non-small cell lung cancer cells. *Oncol Rep*.

- 2015;34(3):1289-300.
23. Avtanski DB, Nagalingam A, Bonner MY, Arbiser JL, Saxena NK, Sharma D. Honokiol activates LKB1-miR-34a axis and antagonizes the oncogenic actions of leptin in breast cancer. *Oncotarget*. 2015. [Epub ahead of print]
24. Tang WK, Chui CH, Fatima S, Kok SH, Pak KC, Ou TM, et al. Inhibitory effects of *Gleditsia sinensis* fruit extract on telomerase activity and oncogenic expression in human esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Mol Med*. 2007;19(6):953-60.
25. Lu D, Xia Y, Tong B, Zhang C, Pan R, Xu H, et al. In vitro anti-angiogenesis effects and active constituents of the saponin fraction from *Gleditsia sinensis*. *Integr Cancer Ther*. 2014;13(5):446-57.
26. Yang Y, Ikezoe T, Takeuchi T, Adachi Y, Ohtsuki Y, Koeffler HP, et al. *Zanthoxyli Fructus* induces growth arrest and apoptosis of LNCaP human prostate cancer cells in vitro and in vivo in association with blockade of the AKT and AR signal pathways. *Oncol Rep*. 2006;15(6):1581-90.