

知母 추출물이 L-1210 및 S-180 암세포주 성장 억제에 미치는 영향

임치혜 · 초재승 · 김효수 · 권승만 · 김 신 · 김일환 · 박혜선

동신대학교 한의과대학 사상체질과

Abstract

The Growth Inhibition Effect of L-1210 and S-180 Cancer Cell Lines by the Extract from Anemarrhena Asphodeloides

Yim Chi-Hye, Cho Jae-Seung, Kim Hyo-Soo, Kwon Seung-Man, Kim Shin, Kim Il-Hwan, Park Hye-Sun

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Dong-Shin University

1. Objective

This study was aimed to screen the potential antitumor activity of one kinds of Korean medicinal herb extracts against cancer cell lines and to evaluate the growth inhibition effect of L-1210 and S-180 cancer cell lines.

2. Methods

It confirmed Anemarrhena asphodeloides extracts to screen the potential antitumor activity. Then, it was extracted with 4 kinds of solvents ; hexane, ethyl acetate, butanol and H₂O, and the Growth inhibition effect of these extracts were determined against cancer cell and normal cell.

The results were as follows :

The IC₅₀(50% inhibitory concentration) values of Anemarrhena asphodeloides extracts were shown to be 253 μ g/ml against L-1210 cell lines.

The IC₅₀ values of ethyl acetate extracts were shown to be 915 μ g/ml against L-1210 cell lines.

The IC₅₀ values of butanol extracts were shown to be 52.3 μ g/ml, 485 μ g/ml against L-1210, S-180 cell lines, respectively. The butanol extracts were more selectively effective than other extracts to cancer cell lines.

3. Conclusion

From these data, it could be concluded that the Anemarrhena asphodeloides extracts to the Growth inhibition effect of L-1210 and S-180 cancer cell lines.

Key Words : Anemarrhena Asphodeloides, L-1210 Cell, S-180 Cell, Growth Inhibition

I. 緒 論

암은 인류의 건강을 위협하는 주요한 질병의 하나로, 심근경색 및 뇌혈관 질환보다 더 높은 사망률을 보이고 있다. 암 발생의 빈도는 해마다 증가하고 있지만¹, 현재 개발된 대부분의 항암제는 암세포와 정상세포 모두에 대하

• 접수일 2007년 7월 2일; 승인일 2007년 7월 27일
• 교신저자 : 임치혜
전남 순천시 조례동 1722-9번지 동신대한방병원
사상체질과
Tel : +82-61-729-7280 Fax : +82-61-725-1717
E-mail : lin9536@lycos.co.kr

여 독성을 나타내어 여러 가지 부작용이 유발될 뿐만 아니라 약제에 내성을 보이는 세포가 잔존하기도 하여 이러한 문제점을 극복하고자 천연식물로부터 항암성 물질을 찾는 연구가 많이 보고 되고 있다^{2,7}.

知母는 百合科에 속하는 식물로서 性味는 苦, 寒 하며 滋陰降火, 潤燥通腸 등의 효능이 있어 煩熱, 消渴證, 骨蒸勞熱, 肺熱咳嗽, 大便燥結, 小便不利 등에 사용되고⁸, 知母의 성분 중에 timosaponin A-III가 항암활성을 나타낸 보고가 있었다⁹.

『東醫壽世保元』¹⁰에서 知母는 黃連, 黃栢, 梔子, 生地黃, 石膏와 더불어 少陽人의 대표적인 淸熱藥에 속하며, 少陽人 裏熱病中 煩熱證, 消渴證에 常用되는 涼膈散火湯이나 地黃白虎湯, 忍冬藤地骨皮湯 등에 사용되고 있다. 대체로 少陽人의 病은 轉變과 變化가 빠르다고 하였으며 病因이 주로 火熱로 인한 것이기 때문으로 보았다¹¹. 이러한 이유로 少陽人의 질병 치료에 있어서 淸熱作用이 있는 약제가 많이 사용됨을 볼 수가 있는데^{11,12} 암과 같은 난치성 질환의 경우에도 마찬가지로 淸熱作用이 있는 약물이 효과가 있을 것이라고 생각 되고, 또한 知母는 滋陰, 益氣와 같은 扶正祛邪의 효능도 가지고 있어 암에 대한 치료효과가 있을 것으로 생각되었다.

현재까지 人蔘^{2,3}, 黃芩^{4,5}, 두릅나무(*Aralia elata*)⁶, 미역줄나무(*Tripterygium regelii*)⁷ 등이 암세포주에 대한 세포독성 및 항암작용을 보고하였고, 車¹³는 한방에서 항암 및 항세균제로서 가장 많이 처방되어온 생약의 종류를 밝혔으며, 洪^{14,15}은 한방처방의 통계학적연구에서 한방에서 처방되고 있는 293種의 生藥에 대하여 처방별 통계를 자세히 제시하여 各生藥 연구의 기초자료를 제공하였으나 知母에 관한 항암연구로는 이⁹ 등이 知母의 항암활성성분을 연구하였을 뿐 암세포주에 대한 세포독성 및

항암작용을 보고한 연구는 없었다.

이에 본 연구에서는 少陽人 裏熱證에 널리 쓰이는 知母로부터 추출물을 분획하여 혈액암 세포주인 L-1210과 복강암 세포주인 S-180에 대한 세포독성 효과를 확인하여 유의한 결과를 얻었기에 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 實驗方法

1. 실험재료

1) 약재

실험에서 사용한 知母는 전라남도 강진에 소재한 知母 재배 농가를 직접 방문하여 구입하여 사용하였다.

2) 시약 및 기기

항암 활성 측정을 위한 MTT 등의 시약은 Sigma 제품(Sigma Chemical Co., USA)을 사용하였고, 세포 독성 측정을 위해서 microplate reader(Bio-Tek, USA)를 사용하였다.

2. 실험방법

1) 검액 조제

(1) 추출물 조제

동결 건조된 知母 100g에 1차 증류수 1,500 ml를 첨가하여 전기약탕기(DWP-99000T, 한국)로 120분 전탕한 후 Whatman paper No. 1로 여과한 여과액을 건조기(비전과학, 한국)에서 건조하여 12.4g의 추출물을 얻었다.

이후 1차적으로 물 추출물의 항암 활성을 확인한 후 다시 증류수에 현탁시킨 다음 Hexane, Ethyl acetate, Butanol 및 H₂O 등의 용매로 분획하여 농축한 후 동결 건조하여 냉장 보관하면서 시료로 사용하였다.

2) 암세포에 대한 독성

(1) 암세포 배양 및 세포 독성 측정

L-1210 및 S-180 세포주의 배양은 RPMI1640 복합배지를 이용하여 10% Fetal Bovine Serum과

1) 이제마. 동의수세보원. 여강출판사, 서울, 2003:175.
“少陽人病 以火熱爲證故 變動 甚速-”

항생제(Antibiotic antimycotic)를 첨가하여 37℃, 5% CO₂의 습윤화된 incubator에서 적응시켜 배양하였고, 암세포에 대한 세포 독성능 측정은 MTT 검정법으로 실험하였다. 암세포에 대한 세포독성능을 측정하기 위해 96 well flat bottom microtiter의 각 well에 logarithmic phase에 도달한 암세포를 2~4×10⁴ Cell/ml의 농도가 되도록 조절하여 96 well microplate에 세포부유액 90μl씩 분주하고, 24시간 동안 배양한 후 세포 배양액을 넣어 blank로 하였다. 각각의 시료는 DMSO(Dimethyl sulfoxide)에 녹여 농도별(10, 30, 100, 300, 1,000mg/ml)로 첨가하여 3일 배양한 후 모든 well에 MTT용액(5mg/ml PBS) 10μl씩을 가해주고 다시 37℃, 5% CO₂의 습윤 배양기에서 4시간 30분 더 배양함으로써 MTT가 환원되도록 하였다. 각 well에 생성된 formazan 결정을 DMSO 150μl로 잘 녹여서 Microplate Reader(Bio-rad, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도 값을 측정하여 IC₅₀(50% inhibitory concentration) 값을 산출하였다¹⁶⁻²⁵.

3. 통계 처리

본 연구의 통계처리는 Student-Newman-Keuls

multiple range test를 이용하여 평균값의 유의성을 5% 이내의 한계로 조사하였다.

Ⅲ. 結 果

1. 암세포주에 대한 물 추출물의 세포 성장 억제 효과

물 추출물의 세포 독성 효과를 관찰한 결과 L-1210에 대한 물 추출물의 세포 독성은 약 253μg/ml 정도의 농도에서 IC₅₀ 값을 나타내었는데 비해 S-180에 대한 독성 효과는 L-1210에 비해 미약한 저해 효과를 보였으며 본 연구에 사용된 최대농도인 1,000μg/ml에서도 IC₅₀값을 구할 수 없었고(Fig. 1), IC₅₀ 값 부근인 200μg/ml 농도에서의 세포 생장은 다음과 같이 관찰되었다(Fig. 2).

2. 암세포주에 대한 n-Hexane 분획물의 세포 성장 억제 효과

n-Hexane 분획물 세포 독성 효과를 관찰한 결과 L-1210 및 S-180 세포주에 대해 IC₅₀ 값을 구할 수 없었고, 知母 물 추출물의 n-Hexane 분획에서는 암세포 억제 활성이 미약하게 보였

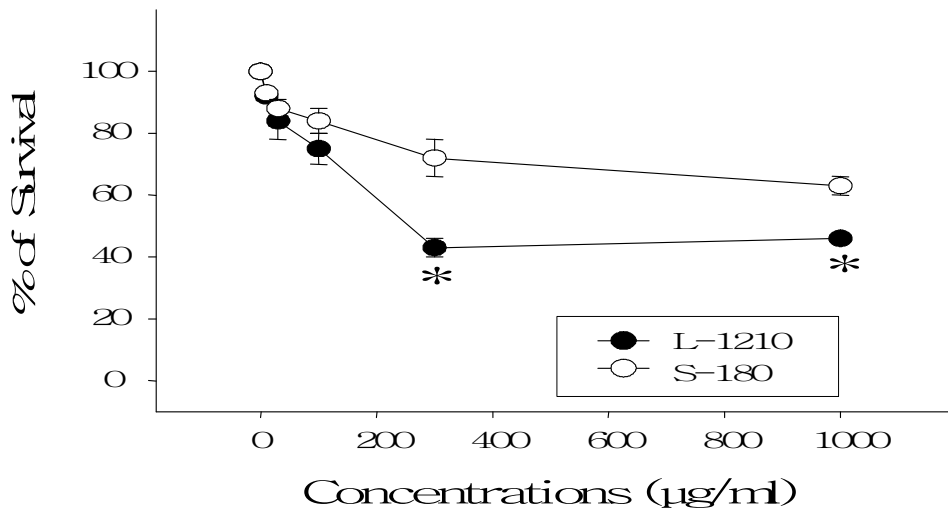


Fig. 1. The Viability of Cells was Measured by MTT Activities in Water Extract of Anemarrhenae Rhizoma on Cancer Cell Lines, L-1210 and S-180. * Statistically different(p<0.05) when compared with another group of same concentration.

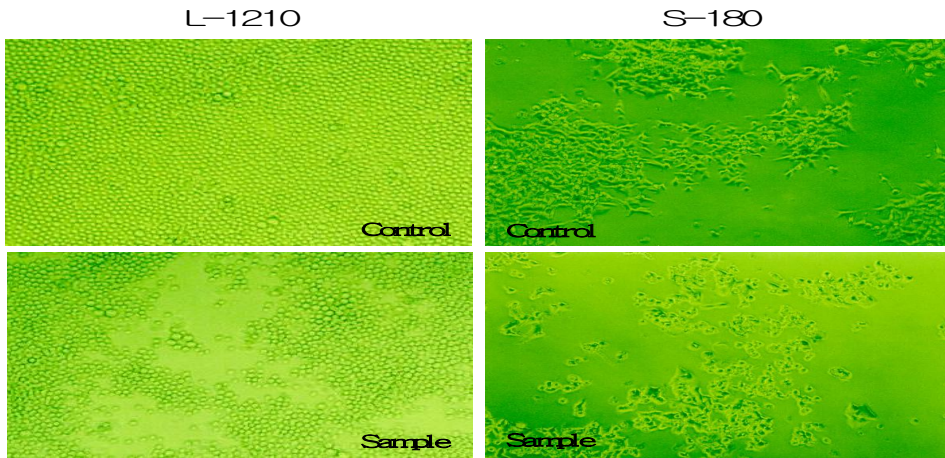


Fig. 2. Microscopic View of Anti-cancer Activities in Water Extract of Anemarrhenae Rhizoma on Cancer Cell Lines, L-1210 and S-180. Control, Normally Grown up Cells; Sample, Water Extract of Anemarrhenae Rhizoma Treated Cells.

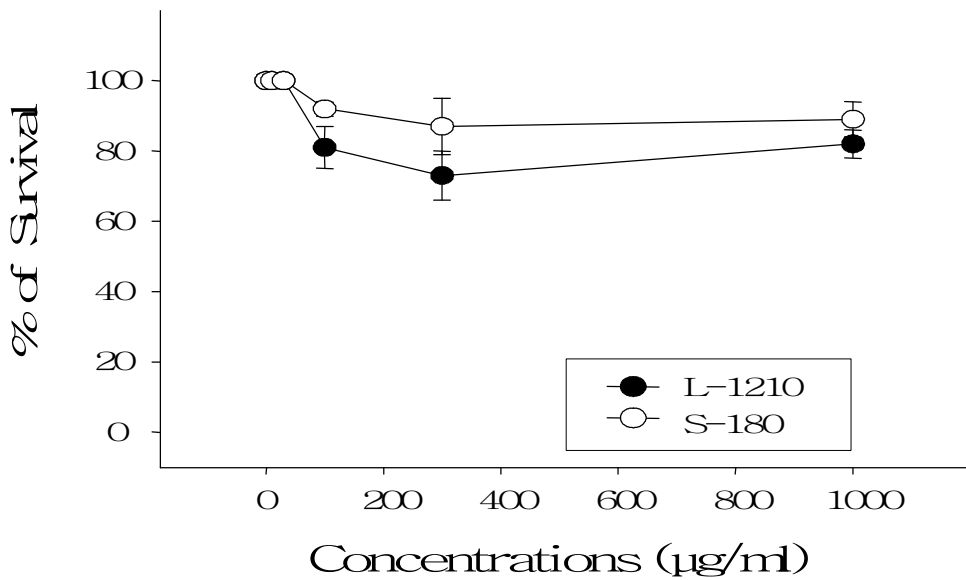


Fig. 3. The Viability of Cells was Measured by MTT Activities in n-hexane Fraction of Water Extract of Anemarrhenae Rhizoma on Cancer Cell Lines, L-1210 and S-180.

으며 비교적 높은 농도인 1,000µg/ml에서도 활성이 약하게 나타났다(Fig. 3).

3. 암세포주에 대한 Ethyl acetate 분획물의 세포 성장 억제 효과

Ethyl acetate 분획물의 세포 독성 효과를 관찰한 결과 Ethyl acetate 분획물은 L-1210 세포주에서의 IC50값이 약 915 µg/ml로 암세포주 사멸

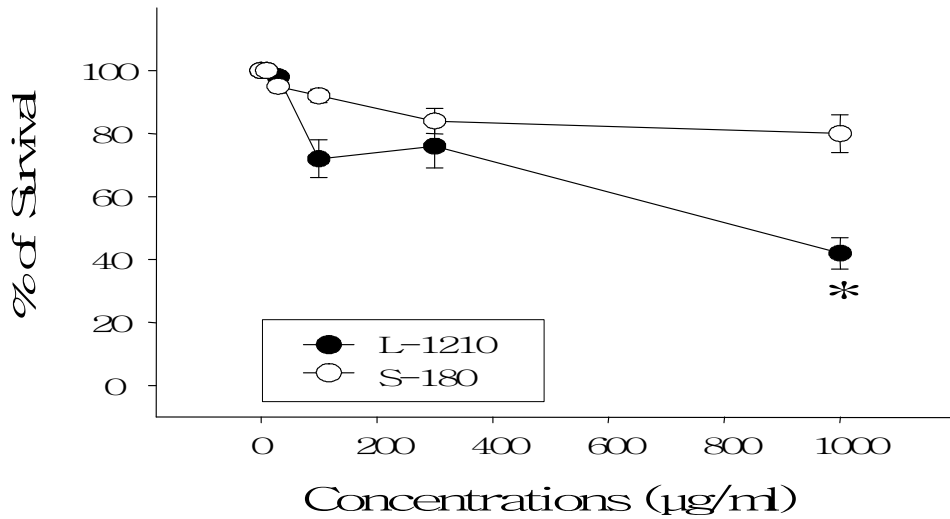


Fig. 4. The viability of Cells was Measured by MTT Activities in Ethyl Acetate Fraction from Water Extract of Anemarrhenae Rhizoma on Cancer Cell Lines, L-1210 and S-180. * Statistically different($p < 0.05$) when compared with another group of same concentration.

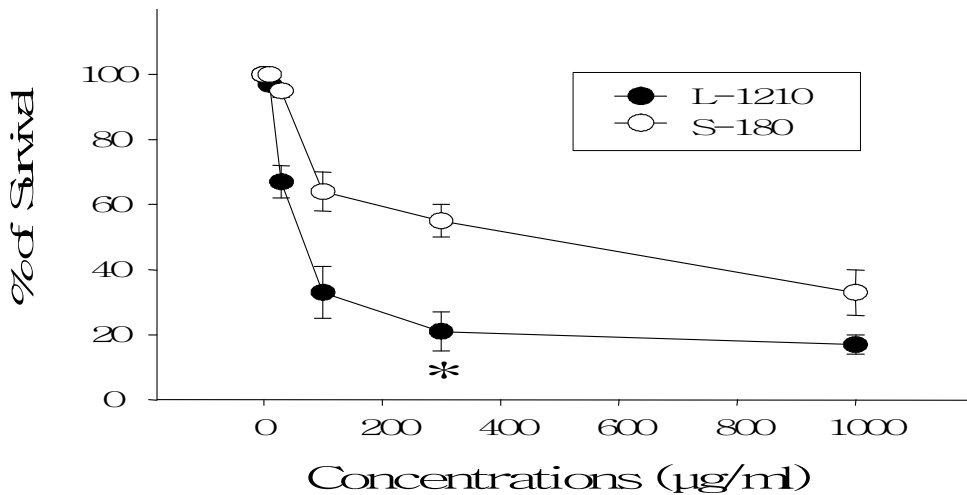


Fig. 5. The Viability of Cells was Measured by MTT Activities in Butanol Fraction from Water Extract of Anemarrhenae Rhizoma on Cancer Cell Lines, L-1210 and S-180. * Statistically different($p < 0.05$) when compared with another group of same concentration.

률이 높았으나 S-180에 대해서는 본 연구에 사용된 최대 농도인 1,000 µg/ml에서 IC50 값을 구할 수 없었다(Fig. 4).

4. 암세포주에 대한 Butanol 분획물의 세포 성장 억제 효과

Butanol 분획물의 세포 독성 효과를 관찰한 결과 Butanol 분획물에 대한 암세포의 독성효

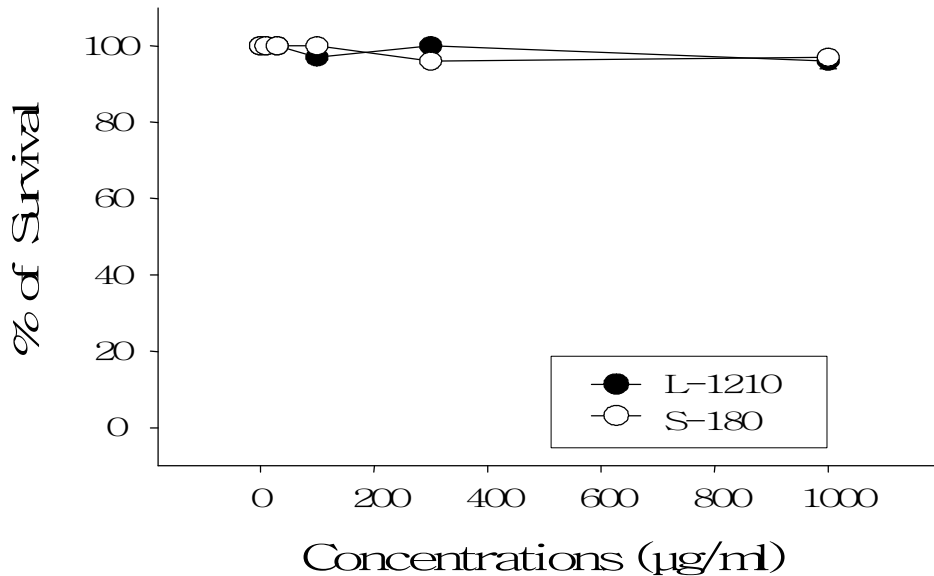


Fig. 6. The Viability of Cells was Measured by MTT Activities in H₂O Fraction from Water Extract of Anemarrhenae Rhizoma on Cancer Cell Lines, L-1210 and S-180.

과를 비교한 결과 L-1210에 대해서 IC₅₀값이 52.3 µg/ml로 나타났으며, S-180에 대해서는 약 485 µg/ml 부근에서 IC₅₀값을 관찰할 수 있었다 (Fig. 5).

5. 암세포주에 대한 수용성 분획물의 세포 성장 억제 효과

수용성 분획물의 세포 독성 효과를 관찰한 결과 수용성 분획물이 L-1210 및 S-180 세포주에 대해 사멸 효과를 전혀 나타내지 않았다 (Fig. 6).

IV. 考 察

종양이란 조직의 자율적인 과잉 성장을 뜻하며, 이것은 개체에 대해서 의의가 없거나 이롭지 않을뿐더러 정상조직에 대해서 파괴적인 것을 말한다²⁶. 일반적으로 임상 및 병리 형태학적으로 양성종양과 악성종양으로 구분되며, 우리가 일반적으로 암이라 지칭하는 악성종양은 정상세포와 비교할 때 모양이 불규칙하고

핵의 크기도 아주 다양하며, 세포는 아주 빠르게 분열하고 침윤성의 성장을 하며 체내 각 부위로 확산 및 전이를 하는 특징을 갖고 있다²⁷.

암의 발생원인은 화학물질, 전리방사선 및 자외선 등의 물리적 자극, 바이러스, 암유전자, 유전성 등이고, 암발생의 위험요인으로는 흡연, 음주, 직업적 폭로, 환경공해, 약물, 식이요인 및 영양 등이 있으며 치료방법으로는 수술, 방사선요법, 화학요법, 면역요법^{26,28} 등이 있는데, 수술은 조기에 치료할 경우 완치가 가능하지만 말기환자나 전이되어 재발하는 경우에는 적절하지 못하다는 한계가 있다. 방사선요법은 국소치료를 통해 암세포 소멸, 억제효과가 뛰어나지만 조혈계통, 소화기계통, 면역계통 등에 대한 부작용을 갖고 있다. 화학요법은 전신적인 치료법이지만 정상세포와 암세포를 구분하지 못하는 단점이 있으며²⁹, 암세포를 특이적으로 인식하는 면역요법 역시 종양의 크기나 일부 요인에 의해 작용이 차단되는 경우가 있는 등의 임상적 한계를 갖고 있다^{25,29,30}.

그리하여 최근 의료계에서는 부작용이 적으

면서 유효한 항암제를 개발하기 위하여 천연물을 대상으로 항암성 screening을 많이 시도하고 있는데, 특히 항암제 개발 연구에 있어서 미국 국립 암 연구소에서 항암성 screening에 이용된 물질 중 약 47%가 천연물이었다는 사실은 매우 주목되는 점이다.

암에 대한 한의학의 인식은 『黃帝內經』에서 “石瘕, 腸覃” 등으로 언급한 이래 “癌, 腫瘍, 乳巖, 石疽, 石瘕” 등으로 인식하였고^{31,32}, 癰疽와 癌의 관계는 浮腫, 發熱, 疼痛하면서 肌肉間에 발생하는 것을 癰이라 하고, 腫根이 堅固하면서 熱이 없고 暗紫色을 띠는 것을 疽라 하며, 紫黑色을 띠고 堅硬하며 潰瘍이 됨으로써 巖穴과 같은 상태가 되는 것을 암이라 하여 암이 癰疽形態中の 하나 라고 분류하였다. 治法에 대해서는 歷代로부터 “堅者削之, 結者散之, 留者攻之, 損者益之”의 4대 방법이 설정되어 왔고, 近來에는 理氣化血, 通經活絡, 化痰利濕, 軟堅散結, 解毒止痛, 益氣養血, 健脾和胃, 滋補肝腎 등의 治法이 활용되고 있다³³.

『東醫壽世保元』¹⁰에서는 암에 관해서 “癰疽眼病 皆是中消之變證也”라 하여 少陽人裏熱病證中 消渴病이 변해서 癰疽가 된다고 하였는데, 癰疽가 곧 암은 아니지만 『東醫寶鑑』에서도 “發熱, 憎寒, 頭痛, 惡心, 筋脈拘牽, 氣急, 煩悶, 或病渴多年, 是皆欲發癰疽之證也”³⁴라 하여 현대적인 암 증상과 매우 유사한 것도 있음을 볼 수 있다.

知母는 百合科에 속하는 식물로서 性味로는 苦, 寒 하며 成分으로는 saponin, xanthone류 등이 분리 보고되고 있는데⁸, saponin 중 timosaponin A-III가 항암활성을 나타낸 보고가 있었다⁹. 知母는 滋陰降火, 潤燥通腸 등의 효능이 있어 煩熱 消渴證, 骨蒸勞熱, 肺熱에 의한 咳嗽, 大便의 燥結, 小便의 不利를 치료한다고 하였고, 『神農本草經』⁸에서는 “主消渴熱中, 除邪氣肢體浮腫, 下水, 補不足, 益氣”라 하였다.

『保健省 東武遺稿』³⁵에 따르면 知母는 味苦 熱渴能除 骨蒸有汗 痰咳皆舒하고 壯腎而有內守之力하여 少陽人의 腎局陰氣를 보강하면서

陰氣를 耗損하는 虛火를 清解하는 작용을 지닌다고 하였다. 또한, 『東醫壽世保元 辛丑本』에서 知母는 ‘白虎湯’, ‘荊防瀉白散’, ‘猪苓車前子湯’, ‘地黃白虎湯’, ‘陽毒白虎湯’, ‘涼膈散火湯’, ‘忍冬藤地骨皮湯’, ‘熟地黃苦參湯’에서 볼 수 있고, 『東醫壽世保元 甲午本』에서는 ‘白虎湯’, ‘水火既濟湯’, ‘七味苦參湯’, ‘渡海白虎湯’, ‘猪苓白虎湯’에서 그 用例를 볼 수 있으며, 『東醫壽世保元 草本卷』에서는 ‘六味地黃湯’, ‘白虎湯’, ‘腰將軍湯’, ‘加味既濟湯’, ‘清陽散火湯’, ‘渡海白虎湯’, ‘猪苓白虎湯’, ‘七味苦參湯’, ‘水火既濟湯’에서 살펴볼 수 있는데^{11,12,36,37}, 상기 처방들은 주로 熱證에 쓰이는 처방으로 少陽人의 질병 치료에 있어서 清熱作用이 있는 知母가 많이 쓰이게 된다.

현재 知母에 대한 연구로는 설³⁸의 “知母의 鎮靜睡眠效果 및 腸管平滑筋에 미치는 영향”, 지³⁹의 “知母의 利尿效果에 관한 연구”, 정⁴⁰의 “知母의 collagen 유발 관절염에 대한 연구” 등이 있으며, 항암연구로는 이⁹의 “知母의 항암 활성성분에 관한 연구”가 있었으나 암세포주에 대한 세포독성 및 항암작용을 보고한 연구는 없었다.

이에 본 研究에서는 少陽人 裏熱證에 사용되는 대표적인 藥材인 知母로부터 추출물을 얻고 그 분획에 대한 혈액암 세포주인 L-1210과 복강암 세포주인 S-180에서의 세포독성 효과를 검색하여 관찰하였다.

먼저 시료로 사용된 知母는 1차적으로 물 추출물을 얻고, RPMI1640 복합배지를 이용하여 10% Fetal Bovine Serum과 항생제를 첨가하여 37°C, 5% CO₂의 습윤화 된 incubator에서 적응시켜 배양된 L-1210 및 S-180 세포주를 MTT 검정법으로 항암 활성을 확인한 결과 L-1210에서는 암세포 억제 활성을 보였고, S-180에서도 미약한 저해 효과를 나타내므로 항암효과의 가능성을 보였다.

물 추출물의 항암활성을 확인한 후 다시 증류수에 현탁시킨 다음 n-Hexane, Ethyl acetate, Butanol 및 H₂O 등의 용매로 분획하여 농축한

후 각각의 항암활성을 다시 확인해 보았다.

V. 結 論

知母 추출물 및 그 분획에 대한 혈액암 세포주인 L-1210과 복강암 세포주인 S-180에서의 세포독성 효과를 검색한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 知母 추출물 및 그 분획물은 S-180에 비해 L-1210에서 더 높은 사멸률을 보였고, 또한 L-1210에서 더 많은 IC50 값이 관찰되었다.
2. 知母 추출물의 분획인 Ethyl acetate는 L-1210 세포주에서만 사멸률이 높았다.
3. 知母 추출물의 분획 중 L-1210 및 S-180 두 세포주에 대해서 모두 억제 활성을 보인 것은 Butanol이었다. Butanol은 다른 추출물보다는 선택으로 두 암세포주에 효과적으로 성장 억제제를 보여 유의성이 가장 높다.
4. 知母 추출물의 분획인 n-Hexane 및 H₂O는 L-1210 및 S-180 세포주에 대해선 암세포 억제 활성이 극히 미약하여 유의성이 없었다.

이상의 결과로부터 知母의 추출물이 L-1210과 S-180 세포주 성장억제에 대해 유의한 결과를 보였으나 知母에 대한 연구가 아직 많이 보고된 바 없으므로 향후 知母 추출물의 성분조사 및 작용기전에 대한 구체적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 參考文獻

1. 보건 사회부. 한국인 암등록 조사 자료 분석 보고서. 대한암학회지. 1989;21(1):151-216.
2. Ahn B.Z. and S.L. kim : Beziehung zwischen struktur und zytotoxi-zitaetvon panaxydol - analogen gengen L1210 - zellen. Archiv.Pharm. (Weimheim). 1988;321:61.
3. Ahn B.Z. and S.L. kim : Antineoplastic natural products and the analogu VI. panaxydol, the cytotoxic principle of the Panax ginseng root against L1210 cells. Arch. Pharm. Res. 1985;8: 283.
4. Ryu S.H., B.Z. Ahn and M.Y Pack : The cytotoxic principle of Scutellaria radix against L1210 cell. Planta Medica. 1985;355.
5. Sato A. Studies on anti-tumor activity of crude drugs I. The effects of aqueous extracts of some crude drugs in shortterm screening test.(1). YakugaKu Zasshi. 1898;109:407.
6. 김용규 외. 두릅나무 부탄올 추출물의 항암 및 면역 활성화에 미치는 영향. 경성대학교 논문집. 1994;15(2):251-262.
7. 박홍철. 미역줄나무 추출물에 의한 L1210, 암세포주에 대한 세포독성. 단국대 대학원 학위논문. 1994:388.
8. 辛民教 외. 中藥大辭典. 圖書出版 鼎談. 1997: 3951-3953.
9. 이승호 외. 지모의 항암활성성분에 관한 연구. 생약학회지. 1995;26(1):47-50.
10. 이제마. 동의수세보원. 여강출판사. 2003: 185.
11. 원지상 원저. 김정렬 외 3인 공역. 東醫四象新編. 정담, 서울, 2002:194,199,201-2,219, 226.
12. 전국한의대 사상의학교실 공편. 사상의학. 집문당, 서울, 2004:414-437,705-720.
13. Cha, S.M. Potential anticancer medicinal plants. A statistical evaluation of their frequencies of appearance in Oriental medicine formularies. Kor-ean J. of pharmacognosy. 1977;8(1):1.
14. 홍문화. 한방처방의 통계학적 연구(I). 생약의 처방출현빈도 및 기원분포. 생약학회지. 1972;3(2):57.
15. 홍문화. 한방처방의 통계학적 연구(II). 인삼배합 한방처방의 통계학적 연구. 생약학회지. 1972;3(4):187.
16. Chung, H.K. Park, J.H. Lim, J.K. Lee, K.J. Chung, G.Y. and Jeoung, H.J. The activity of antioxidants and suppression of cancer cell pro-

- liferation in extracts of *Orostachys japonicus* A. Berger. *Kor.J. Med. Crop Sci.* 2003;11(1): 31-39.
17. Yim, H.B. Lee, G.S. and Chae, H.J. Cytotoxicity of Ethanol Extract of *Raphanus Sativus* on a Human Lung Cancer Cell Line. *Kor. J. Soc. Food. sci.* 2004;33(2):287-290.
 18. Cha, Y.J. and Lee, S.Y. Cytotoxicity and Multidrug-Resistance Reversing Activity of Extracts from Gamma-Irradiated *Coix lachryma-jobi* L. Var. *ma-yuen* Stapf seed. *Kor. J. Soc. Food. sci.* 2005;34(5):613-618.
 19. Kwag, J.S. and Baek, S.H. Cytotoxicity and Antimicrobial Effects of Extracts from *Salvia miltiorrhiza*. *Kor. J. Pha.* 2003;34(4):293-296.
 20. Lee, M.K. Choi, G.P. Lee, H.R. Lee, G.Y. Yu, C.Y. and Lee, H.Y. Enhanced Immune Activity and Cytotoxicity of *Artemisia capillaris* Thunb. Extracts against Human Cell Line. *Kor.J. Med. Crop. Sci.* 2004;12(1):36-42.
 21. Robert, K.Y. Cheng, Y.Z. and Cheng, C.C. Screening and evaluation of anticancer agents. *Exptl. Clin. Pharmacol.* 1998;10(2):67.
 22. Jun, Y.Y. Cui, C.B. Lee, H.J. Moon, S.Y. Lee, D.S. and Ham, S.S. Antimutagenic and Cytotoxicity Effects of Extracts of *Eleutherococcus senticosus* Maxim fruits. *Kor. J. Food. Pha.* 2003; 10(3):394-400.
 23. Kim, J.H. Kim, D.H. You, J.H. Kwon, M.C. Lee H.J. Lee H.J. and Lee H.Y. Anticancer and Immune Activities of the Extracts from *Amorpha fruticosa* L. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* 2005;13(1):41-47.
 24. Jung, B.M. Lim, S.S. Park, Y.J. and Bae S.J. Inhibitory Effects on Cell Survival and Quinone Reductase Induced Activity of *Aster yomena* Fractions on Human Cancer Cells. *J. Kor. Soc. Food. Sci.* 2005;34(1):8-12.
 25. Shin, M.K. Kim, S.K. Lee, S.K. Yang, E.Y. Lee H.O. and Baek, S.H. Cytotoxicity and Antimicrobial Effect of the Extract of *Salvia plebeia*. 2001.
 26. 서울대학교 의과대학. *중양학*. 서울대학교 출판부, 서울, 1992:1-3, 23-88, 37-143, 225-234.
 27. 대한의학협회 분과학회 협의회. *암의 진단과 치료*. 여문각, 서울, 1992:3.
 28. 최규철 외. Lymphokine Activated Killer(LAK) 세포 및 interleukin-2를 이용한 암의 면역요법. *대한의학협회지*. 1987;0(8):869-884.
 29. Park C. K., Lim D. K., Kook Y. H., Cha C. R. and Paik C. G. In vitro chemosensitivity of doxorubicin on human cancer cell lines. *J. Ko Cancer Assoc.* 1990;22:61.
 30. 김길현. 면역반응의 측정-면역조절물질탐색기술. *한국생화학학회. 산학연 심포지움 논문집*. 1990;3:393-406.
 31. 楊維傑主編. *癌症腫瘤醫論醫話精選*. 藥寮文化事業公司. 1989:1-4.
 32. 張代釗. *中西醫 結合治療癌症*. 山西. 山西人民出版社. 1984:11, 34.
 33. 黃榮 주편. *中國醫學百科全書 中醫外科學*. 上海. 上海科學技術出版社. 1985:34.
 34. 허준 저. *동의보감국역위원회 역. 대역 동의보감*. 법인문화사, 서울, 1999:1407.
 35. 이제마 원저. 최병일 교열발간. *이제마유작 문헌집*. 도서출판 파란들, 서울, 2002:239.
 36. 이제마 원저. 김달래 역. *동의수세보원 갑 오구분*. 목과 토, 서울, 2002:191-198.
 37. 이제마 원저. 박성식 역. *동의수세보원 초본권*. 집문당, 서울, 2003:316-322.
 38. 설수용 외. 지모의 진정수면효과 및 장관평활근에 미치는 영향. *경희대 대학원 학위논문*. 1984:58.
 39. 지일충 외. 지모의 이뇨효과에 관한 연구. *경희대 대학원 학위논문*. 1984.
 40. 정근기 외. 지모의 collagen 유발 관절염에 대한 연구. *경희대 대학원 학위논문*. 2006.