

## 황련과 감초의 수용성 혼합물로부터 얻어진 반응침전물의 세포독성

은재순 · 조해전 · 양재현 · 전 훈 · 김영안  
전주우석대학교 약학과

### Cytotoxicity of Reaction-Precipitate from *Coptidis Rhizoma* and *Glycyrrhizae Radix* Aqueous Mixture

Jae Soon Eun, Hae Jeon Cho, Jae Heon Yang, Hoon Jeon and Young Ahn Kim  
Department of Pharmacy, Chonju Woosuk University, Chunju 565-800, Korea

**Abstract**—The purpose of this research was to investigate the effect of reaction-precipitate from *Coptidis Rhizoma* and *Glycyrrhizae Radix* aqueous mixture (CGP) on the cytotoxicity. The effects of CGP on the growth of tumor cells, Balb/c 3T3 cell, mouse spleen cell and human lymphocyte were compared with those of berberine, glycyrrhizin and berberine glycyrrhizinate (BG), which were estimated by MTT colorimetric assay or cell counting. CGP, berberine and BG inhibited the growth of several tumor cells, such as Hep G2, A549, Raji, MCF-7, HeLa and KHOS-NP. Whereas, glycyrrhizin inhibited the growth of Raji and MCF-7. CGP did not affect on Balb/C 3T3 cells, mouse spleen cells and human lymphocyte at  $10^{-6}$ ~ $10^{-5}$ g/ml. CGP increased the number of leukocyte in mice. This results indicate that CGP have the inhibitory action of the growth of human tumor cells, and the side effect of CGP is less than berberine and BG.

**Keywords**—*Coptidis Rhizoma* · *Glycyrrhizae Radix* · berberine · glycyrrhizin · berberine glycyrrhizinate · cytotoxicity

Alkaloid를 함유한 생약들은 생리활성이 강하여 의학적인 용도로 많이 사용되고 있으나 감초와 동시에 함유되어 있을 때는 추출시 침전을 형성하여 약리작용에 변화가 올 수 있음이 지적되고 있다.<sup>1,2)</sup> 황련은 alkaloid인 berberine, palmatine 및 coptisine을 함유하고 있으며 황련탕, 반하사십탕 및 감초사십탕 등의 한방 탕제에서 감초와 같이 사용되고 있다.<sup>3)</sup>

황련과 감초의 추출액을 혼합한 후 방치하던 침전이 형성되는데 이는 황련에 함유된 alkaloid가 감초의 성분인 glycyrrhizin과 이온쌍 침전을

형성하기 때문이며<sup>4,5)</sup> 이 결과 berberine의 고미가 약하여지고 약리작용이 저하된다고 하였다.<sup>1)</sup> 이러한 결과는 침전물에 약리작용이 강한 물질이 존재할 수 있음을 의미하는 것이며, Hayashi<sup>6)</sup>는 침전물의 주성분인 berberine-glycyrrhizinate가 항염증 및 항궤양 치료제로서 사용될 수 있음을 보고하였고, Kim 등<sup>7)</sup>은  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase의 활성을 증가시킨다고 보고하였다.

Berberine은 항암작용이 있으나 세포독성이 강력하며<sup>8,9)</sup> berberine을 일부 열분해하여 얻은 berberrubine 유도체들은 berberine 보다 암세포의

증식 억제작용이 강력하고 세포독성이 약하다고 보고되었으며,<sup>10-12)</sup> 또한 Kim 등<sup>13)</sup>은 황련과 파두의 수용성 혼합물에 항암성이 있음을 보고하였다.

본 실험에서는 황련의 주성분인 berberine, 감초의 주성분인 glycyrrhizin, berberine glycyrrhizinate(BG)와 황련과 감초의 수용성 혼합물로부터 얻어진 반응침전물(CGP)의 인체 암세포주에 대한 세포독성을 비교하였고, 부작용을 검색하기 위하여 마우스의 섬유아세포인 Balb/c 3T3세포, mouse 비장세포 및 human lymphocyte에 대한 세포독성을 측정된 결과를 보고 한다.

### 실험재료 및 방법

검액 조제—황련(*Coptis japonica*)과 감초(*Glycyrrhiza uralensis*)의 수용성 혼합물로부터 얻어진 반응침전물(CGP)은 각 생약 50 g을 50 ml의 증류수로 3시간씩 각각 가열 추출한 후 여과하여 얻은 각 여액을 1:1로 혼합하여 상온에서 2일간 방치한 후 생성된 침전물을 동결건조하여 실험에 사용하였다(수득률 6.4%). Berberine glycyrrhizinate(BG)는 Noguchi방법<sup>14)</sup>에 준하여 berberine·HCl 3.36 g과 glycyrrhizin ammonium salt 4.11 g(mol ratio 2:1)을 각각 1000 ml의 증류수에 가열 용해시킨 뒤 각 용액을 혼합하여(pH 5로 조정) 1일간 방치하여 생성된 침전물을 methanol로 재결정하여 사용하였다(수득률 56.8%). Berberine, glycyrrhizin, BG 및 CGP를 각각 PBS에 용해시켜 membrane filter(pore size 0.22  $\mu$ m)로 여과멸균하여 사용하였다.

시약 및 기기—실험에 사용한 시약은 berberine hydrochloride(TCI), glycyrrhizin ammonium salt (Sigma), Dulbecco's modified Eagle's medium (DME, Sigma), RPMI 1640(Gibco), sodium dodecyl sulfate(SDS, Sigma), fetal bovine serum (FBS, Gibco), trypsin(Gibco), penicillin-streptomycin(Sigma), Dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS-A, Sigma), Ficoll-Hypaque (Sigma), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT, Sigma) 등이며 기타 시약은 1급 시약을 사용하였다. 사용기

기는 ELIZA-Reader(Dynatech), CO<sub>2</sub>-incubator (Vision Scientific Co.), inverted microscope (Nikon Co.), HPLC(Young-In Co.) 및 freeze dryer(Labconco) 등을 사용하였다.

검액의 확인 및 정량—검액의 확인 및 정량은 TLC와 HPLC를 사용하였다. TLC는 CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(65:35:10) 및 *n*-BuOH-AcOH-H<sub>2</sub>O(7:1:2)을 전개용매로 사용하였으며 UV램프로 254 nm 및 365 nm에서 확인하였다. HPLC는 BG 및 CGP를 증류수에 100  $\mu$ g/ml로 용해시켜 20  $\mu$ l를 주입하여 CGP에 함유된 berberine양을 정량하였다. 컬럼은  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>(4 mm i.d., 300 mm), 이동상은 acetonitrile-phosphate buffer(pH 5.2, 60:40)를 사용하였고, 검출은 UV 343 nm에서 유속은 1.0 ml/min로 하였다.

혈액중 berberine 농도의 정량—Ozaki 등의 방법<sup>15)</sup>에 의해 혈액중 berberine을 정량하였다. 즉 berberine, BG 및 CGP를 각각 300 mg/kg씩 흰쥐(SD계, male 150~180 g) 3마리를 1군으로 하여 경구투여하고 2시간 후에 경동맥에서 혈액을 채취하여 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장 2~4 ml를 얻은 후 methanol 10 ml을 가하여 다시 원심분리하였다. 잔사를 methanol 8 ml로 2회 세척하고 원심분리한 후 methanol 전량을 합하여 증발시켜 잔사를 얻었다. 잔사를 HPLC 이동상용매 0.5 ml에 용해시켜 20  $\mu$ l를 주입하였다. 검량선은 혈장에 berberine을 혼합하여 위와 동일한 방법으로 처리하여 작성하였다.

세포배양 조건 및 MTT 법에 의한 세포성장을 측정—HeLa 세포, Hep G2 세포, Balb/c 3T3 세포, KHOS-NP는 DME 배지, Raji 세포, 비장세포, lymphocyte는 RPMI 1640배지, A549 세포는 DMK/F12 배지를 사용하였으며, 배지는 10% FBS와 penicillin-streptomycin(100 units/ml, 100  $\mu$ g/ml)를 첨가하여 사용하였다. MTT법은 Mosmann<sup>16)</sup>이 개발하여 Kotnik 등<sup>17)</sup>이 변형시킨 방법을 이용하였으며, 세포성장률 측정은 전보<sup>18)</sup>와 동일한 방법으로 실시하였다.

암세포주, 마우스 섬유아세포 및 비장세포증식에 미치는 영향—전보<sup>18)</sup>와 동일한 방법으로 실시하였다.

Human lymphocyte에 미치는 영향—Human

lymphocyte는 건강한 성인 남자의 혈액에 Ficoll-Hypaque용액을 가하여 분리하였다.<sup>19)</sup> Heparin 처리된 주사기로 혈액 10 ml를 취하여 12 ml DPBS-A에 혼합한 다음 10 ml의 Ficoll-Hypaque 액 위에 희석 혈액을 층이 분명히 경계를 이루도록 조심스럽게 가했다. 3000 rpm에서 30분간 원심분리한 후 Pasteur pipet을 이용하여 Ficoll-Hypaque 용액 위층에 밀집된 단핵구 층을 취하여 5배 부피의 DPBS-A에 희석하여 2500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 2회 더 세척한 후 hemocytometer를 이용하여 세포의 생존율 및 총세포수를 측정하여 RPMI 1640배지에 부유시켜 96 well plate에  $1 \times 10^5$  cells/well의 농도로 접종하여 각 농도의 검액을 첨가하고 37°C의 CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 배양한 다음 세포수를 hemocytometer로 측정하였다.

백혈구수의 측정—백혈구수를 측정하기 위해 마우스 10마리를 1군으로 하여 대조군에는 0.9% 생리식염수만을 경구투여 하였으며 실험군은 CGP 50 mg/kg을 생리식염수에 용해시켜 1일 1회씩 7일간 경구 및 복강 투여하면서 투여 후 1일, 3일, 5일 및 7일에 각각 마우스의 꼬리를 끝에서 1 mm씩 절단하여 heparinized microtube로 채혈한 후 20배량의 Turk액을 가하여 염색한 다음 hemocytometer로 계산하였다.

### 실험결과 및 고찰

TLC에 의한 berberine, glycyrrhizin, BG 및 CGP의 확인—Berberine, glycyrrhizin, BG 및 CGP를 CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(65:35:10)을 전개용매로 thin layer chromatography한 결과, berberine, glycyrrhizin, BG의 Rf치는 각각 0.72, 0.19 및 0.65이었으며 CGP의 Rf치는 0.65, 0.57 및 0.55이었다. *n*-BuOH-AcOH-H<sub>2</sub>O(7:1:2)을 전개용매로 사용하였을 경우, berberine, glycyrrhizin, BG의 Rf치는 각각 0.36, 0.19 및 0.33이었으며 CGP의 Rf치는 0.33, 0.27 및 0.21이었다. BG는 전개용매에 따라 분해되는 경향을 나타내었으며 CGP중에는 BG와 다른 2가지 물질이 존재하였는데 이는 황련중에 함유된

palmatine과 coptisine<sup>9)</sup> 감초의 주성분인 glycyrrhizin과 결합된 것이 아닌가 추정되나<sup>4)</sup> 자세한 것은 추후 연구되어야 할 것이다.

HPLC에 의한 황련, 감초, BG 및 CGP의 확인과 CGP속에 함유된 BG의 함량 측정—Berberine과 BG는 265 또는 343 nm, glycyrrhizin은 248 nm에서 UV<sub>max</sub>를 나타내기 때문에 본 실험에서는 343 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 황련, BG 및 CGP중에 함유된 berberine의 함량은 6.5%, 65.8% 및 13.4%로 BG는 berberine 2분자와 glycyrrhizin 1분자가 결합하고 있음을 알 수 있었으며, 이 결과는 Kim 등<sup>7)</sup>의 결과와도 동일한 것이었다(Table I).

Berberine, BG 및 CGP의 경구투여 후 혈액 중 berberine 농도비교—Berberine과 CGP를 경구투여 후 혈액중 berberine의 농도를 측정할 결과 Table II와 같다.

Table I. The contents of berberine in used materials

Materials	Berberine contents(%)
Coptidis Rhizoma	5.6
BG	65.8
CGP	13.4

HPLC condition: detector; 343 nm, column;  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>(4mm i.d., 300mm), eluent; acetonitrile-phosphate buffer(pH 5.2)=60:40, temperature; 22°C, flow rate; 1.0 ml/min.  
BG; Berberine glycyrrhizinate  
CGP; Precipitate of Coptidis Rhizoma and Glycyrrhizae Radix decoction

Table II. The concentration of berberine in plasma after oral administration of used materials in rats

Materials	Dose (mg/kg, p.o.)	Concentration ( $\mu$ g/ml)
Berberine	300	0.091 $\pm$ 0.016*
BG	300	0.036 $\pm$ 0.009
CGP	300	0.053 $\pm$ 0.011

HPLC condition: detector; 343 nm, column;  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>(4 mm i.d., 300 mm), eluent; acetonitrile-0.1N tartaric acid-MeOH(5:4:2) 110 ml +0.5 g sodium lauryl sulfate, temperature; 35°C, flow rate; 1.0 ml/min.  
\*; mean $\pm$ S.E. of 3 rats.

**Hep G2, A549, Raji, MCF-7, HeLa, KHOS-NP** 세포에 미치는 각 검액의 효과—각 암세포에 미치는 berberine, glycyrrhizin, BG 및 CGP의 효과를 알아보기 위해 검액  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  및  $10^{-4}$  g/ml를 각각 처리하고 대조군의 흡광도를 100%로 하였을 때 Hep G2 세포에 대해서 berberine은  $10^{-5}$  g/ml 이상의 농도에서, BG는  $10^{-6}$  g/ml 이상의 농도에서 CGP는  $10^{-4}$  g/ml 농도에서 유의성 있는 암세포 증식 억제작용이 있었으며, glycyrrhizin은 암세포 증식억제작용이 없었다. A549 세포에 대해서 berberine은  $10^{-6}$  g/ml 이상의 농도에서, BG 및 CGP는  $10^{-5}$  g/ml 이상의 농도에서 유의성 있는 암세포 증식억제작용이 있었으며, glycyrrhizin은 암세포 증식억제작용이 없었다. Raji 세포에 대해서 berberine, glycyrrhizin 및 CGP는  $10^{-6}$  g/ml 이상의 농도에서, BG는  $10^{-5}$  g/ml 이상의 농도에서 유의성 있는 암세포 증식억제작용이 있었다. MCF-7 세포에 대해서 berberine, glycyrrhizin, BG 및 CGP는  $10^{-6}$  g/ml 이상의 농도에서 유의성 있는 암세포 증식억제작용이 있었다. HeLa 세포에 대해서

berberine은  $10^{-6}$  g/ml 이상의 농도에서, BG 및 CGP는  $10^{-5}$  g/ml 이상의 농도에서 유의성 있는 암세포 증식억제작용이 있었으며 glycyrrhizin은 암세포 증식억제작용이 없었다. KHOS-NP 세포에 대해서 berberine, BG 및 CGP는  $10^{-6}$  g/ml 이상의 농도에서 유의성 있는 암세포 증식억제작용이 있었으며, glycyrrhizin은 암세포 증식억제작용이 없었다(Table III).

**Balb/C 3T3** 세포에 미치는 효과—정상 세포에 미치는 각 검액의 효과를 알아보기 위해 섬유아세포인 3T3세포에 검액  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  및  $10^{-4}$  g/ml를 각각 처리하고 대조군의 흡광도를 100%로 하였을 때 berberine은  $98.3 \pm 6.8$ ,  $79.5 \pm 1.4$  및  $70.1 \pm 1.3\%$ 로, BG는  $101.2 \pm 1.6$ ,  $84.8 \pm 1.4$  및  $74.0 \pm 0.4\%$ 로  $10^{-5}$  g/ml 이상의 농도에서 섬유아세포의 증식을 억제하였으나 CGP는  $108.4 \pm 4.2$ ,  $93.0 \pm 5.7$ ,  $69.3 \pm 3.8\%$ 로  $10^{-4}$  g/ml의 농도인 고농도에서만 섬유아세포의 증식을 억제하였으며 glycyrrhizin은  $102.7 \pm 6.3$ ,  $101.4 \pm 1.0$  및  $106.4 \pm 0.5\%$ 로 섬유아세포의 증식에 별 영향을 주지 않았다(Fig. 1).

Table III. Cytotoxicity of used materials on tumor cells

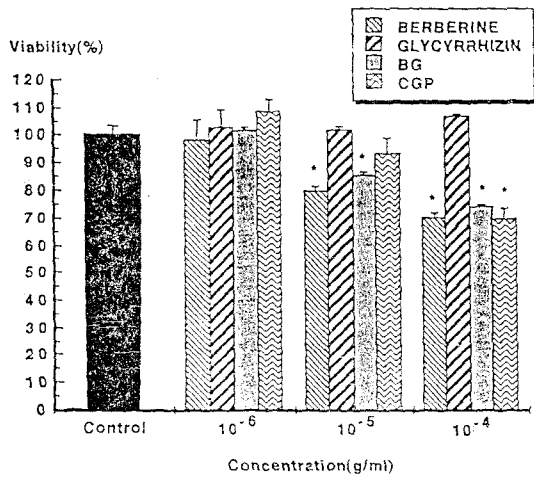
Materials	Dose (g/ml)	Hep G2	A549	Raji	MCF-7	HeLa	KHOS-NP
	Control	100.0±1.4	100.0±1.7	100.0±1.8	100.0±1.6	100.0±1.2	100.0±1.4
Berberine	$10^{-6}$	90.8±7.2	72.8±0.8**	77.2±1.2**	79.0±3.0*	91.9±1.0*	72.0±1.4**
	$10^{-5}$	80.1±1.5**	47.3±0.5**	57.2±0.5**	47.7±1.8**	76.3±0.6**	58.2±1.7**
	$10^{-4}$	41.4±1.5**	25.8±0.4**	18.8±0.3**	36.4±1.2**	66.4±1.1**	9.2±1.9**
Glycyrrhizin	$10^{-6}$	93.7±2.0	94.7±2.4	80.6±2.7*	87.1±1.3**	100.6±0.6	92.2±1.5
	$10^{-5}$	89.1±2.7	98.0±1.1	83.9±3.4*	80.4±4.0*	101.5±1.0	94.1±1.3
	$10^{-4}$	89.1±2.2	100.1±2.1	86.0±2.7*	71.8±1.4**	98.1±0.7	97.0±1.6
BG	$10^{-6}$	92.2±0.9**	95.9±1.9	95.3±0.7	62.6±2.0**	97.8±1.7	83.7±1.7**
	$10^{-5}$	88.7±1.9**	82.1±2.1**	87.9±2.3**	54.3±2.2**	84.5±0.8**	66.7±3.1**
	$10^{-4}$	46.4±2.6**	57.6±1.1**	43.0±0.3**	39.9±0.9**	72.2±0.2**	43.0±0.1**
CGP	$10^{-6}$	105.3±6.1	92.8±1.5	85.3±2.6*	70.5±2.5*	99.2±0.2	83.6±2.3**
	$10^{-5}$	88.0±2.7	67.2±1.8**	40.1±2.3**	65.4±3.1**	83.8±0.6**	63.3±1.8**
	$10^{-4}$	60.4±1.4**	50.4±2.6**	6.9±0.2**	45.8±1.2**	68.2±1.2**	46.1±1.3**

The cells( $1.5 \times 10^4$  cells/well) were cultured in 5% CO<sub>2</sub>-incubator at 37°C for 1 day, and then each materials was mixed and stood free for 2 days.

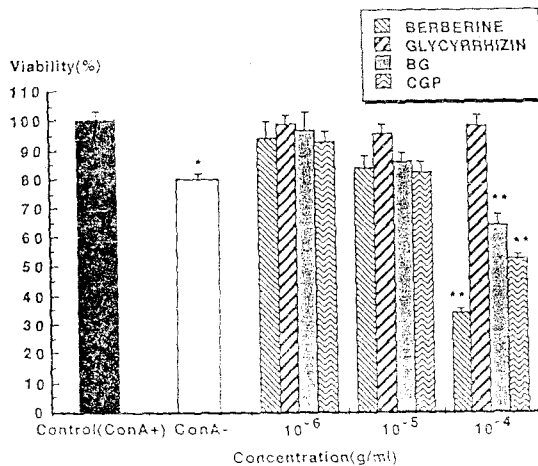
The OD of each well was measured at 570 nm.

The data(%) represents the mean±S.E. from 4 experiments.

\*; Significantly different from control group(\*;  $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.001$ ).



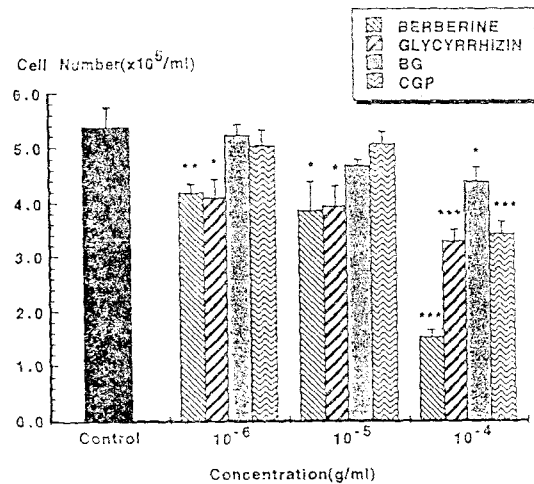
**Fig. 1.** Effect of used materials on Balb/c 3T3 cells  
Each bar represents the mean±S.E. from 4 experiments.  
\*; Significantly different from control group (p<0.001)



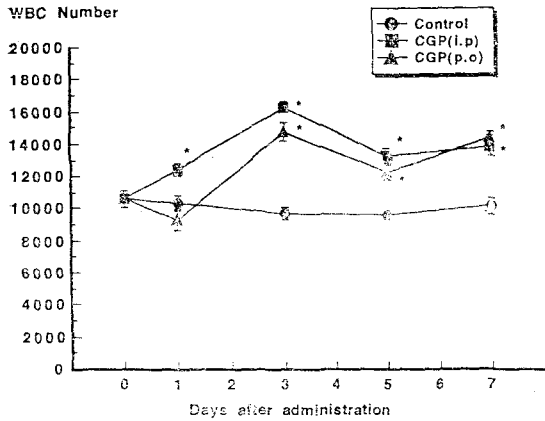
**Fig. 2.** Effect of used materials on T-lymphocyte proliferation  
Spleen cells obtained from C<sub>3</sub>H mice were cultured in RPMI 1640 containing 10% FBS. Concanavalin A (1 µg/ml) was added with various dilution of each samples at the beginning of the culture. The cells were incubated for 48 hrs in CO<sub>2</sub> incubator, followed by the addition of 20 µl MTT and further incubation 4 hrs. At the termination of culture, add 100 µl of 10% SDS and then the cells were incubated for 18 hrs.  
Each bar represents the mean±S.E. from 4 experiments.  
\*; Significantly different from control group (\*; p<0.01, \*\*; p<0.001).

**Mouse spleen cell**에 미치는 각 검액의 효과—마우스 비장세포 배양계를 이용하여 T림파구 mitogen인 concanavalin A (1.0 µg/ml)를 첨가하여 배양한 후 MTT법으로 측정된 결과 Con. A를 첨가한 대조군의 흡광도를 100%로 환산하였을 때 Con. A를 첨가하지 않았을 경우에는 80.5 ± 1.4%이었으며 각 검액을 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-5</sup> 및 10<sup>-4</sup> g/ml를 각각 처리한 결과 berberine은 93.6 ± 5.4, 83.2 ± 4.3 및 33.7 ± 1.3%로, BG는 96.0 ± 6.2, 85.0 ± 3.5 및 63.4 ± 3.5%로, CGP는 92.0 ± 3.5, 81.6 ± 3.4 및 52.0 ± 1.6%로 10<sup>-4</sup> g/ml의 고농도에서 T림파구의 증식을 억제하였으며, glycyrrhizin은 97.9 ± 3.3, 94.6 ± 3.0 및 97.2 ± 3.5%로 T림파구의 증식에 별 영향을 주지 않았다 (Fig. 2).

**Human lymphocyte**에 미치는 각 검액의 효과—Human lymphocyte에 대한 영향을 알아보기 위해 각 검액 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-5</sup> 및 10<sup>-4</sup> g/ml를 각각 처리한 결과 대조군의 lymphocyte 수 (×10<sup>5</sup> cells/ml)는 5.38 ± 0.38이었으며 berberine은 4.16 ± 0.18, 3.84 ± 0.53 및 1.52 ± 0.14 개로, glycyrrhizin은 4.08 ± 0.35, 3.92 ± 0.37 및 3.28 ± 0.21 개로 전농도에서 human lymphocyte의 생존을 억제하였으나 BG는 5.2 ± 0.21, 4.64 ± 0.11 및



**Fig. 3.** Effect of used materials on human lymphocyte  
Each bar represents the mean±S.E. from 4 experiments.  
\*; Significantly different from control group (\*; p<0.05, \*\*; p<0.01, \*\*\*; p<0.001).



**Fig. 4.** Effect of CGP on WBC number in mice. Mice were administered i.p. or p.o. with 50 mg/kg/day of CGP for 7 days. Each bar represents the mean±S.E. of 10 mice.

\*: Significantly different from control group(p<0.001).

4.  $37 \pm 0.26$ 개로, CGP는  $5.01 \pm 0.29$ ,  $5.04 \pm 0.24$  및  $3.41 \pm 0.22$ 개로  $10^{-4}$ g/ml의 고농도에서만 human lymphocyte의 생존을 억제하였다(Fig. 3).

**Mouse WBC에 미치는 CGP의 효과**—CGP 50 mg/kg을 1일 1회씩 투여하면서 1, 3, 5 및 7일째에 혈중 백혈구수를 측정한 결과 대조군에 비해 복강 투여의 경우 1일째부터, 경구투여의 경우 3일째부터 유의성 있게 백혈구수를 증가시켰다(Fig. 4).

### 결론

황련과 감초 수용성 혼합물로부터 얻어진 침전물(CGPI)과 berberine, glycyrrhizin 및 berberine glycyrrhizinate(BG)의 세포독성에 대한 작용을 검색한 결과는 다음과 같다.

1. CGP 경구 투여시 berberine 흡수율은 berberine 단독 투여시 보다 높았다.
2. Berberine, BG 및 CGP는 Hep G2세포, A549 세포, Raji 세포, MCF-7 세포, HeLa 세포 및 KHOS-NP 세포의 증식을 억제하였으며 glycyrrhizin은 Raji 세포 및 MCF-7 세포 증식을 억제하였고, 특히 berberine은 A549 및 KHOS-NP 세포, CGP는 Raji 세포에 대해 증식 억제작용

이 강력하였다.

3. CGP는 berberine 및 BG 보다 Balb/c 3T3 세포 증식 억제작용이 약하였으며, 마우스 비장 세포 증식 억제작용은 비슷하였고 CGP와 BG는 berberine보다 human lymphocyte의 생존율을 증가 시켰다.

4. CGP는 백혈구수를 감소시키지 않았다.

이상의 실험결과 황련과 감초 수용성 혼합물로부터 얻어진 침전물(CGPI)은 berberine 및 berberine glycyrrhizinate(BG)와 비슷한 정도의 암세포 증식 억제작용이 있으며 부작용은 이들 물질보다 약하고 경구투여시 흡수가 용이하였다.

<1994년 9월 3일 접수 : 10월 4일 수리>

### 참고문헌

1. Noguchi, M., Kubo, M., Hayashi, T. and Ono, M.: *Shoyakugaku Zasshi* 32, 104 (1978).
2. Noguchi, M., Kubo, M., Hayashi, T. and Ono, M.: *Chem. Pharm. Bull.* 26, 3652 (1978).
3. 申載鏞: 方藥合編解說, 成韓社, pp.259, 295, 363 (1988).
4. Noguchi, M. and Hashimoto, Y.: *Shoyakugaku Zasshi* 37, 56 (1983).
5. Noguchi, M., Hashimoto, Y. and Kato, A.: *Shoyakugaku Zasshi* 39, 101 (1985).
6. Hayashi, T., Kubo, M. and Noguchi, M.: Japan Kokai 7862. 1817(Ce. Co 7D445/00) (1978).
7. Kim, T.J. and Yoo, B.T.: *J. Pharm. Sci. (Choongnam Natl. Univ.)* 1, 1 (1985).
8. Creasey, W.A.: *Biochem. Pharmacol.* 28, 1081 (1979).
9. Rungsitjakorn, A., Wilairat, P. and Panijpan, B.: *J. Pharmacol.* 33, 125 (1981).
10. Ikekawa, T. and Ikeda, Y.: *J. Pharm. Dyn.* 5, 469 (1982).
11. Kondo, Y. and Suzuki, H.: *Shoyakugaku Zasshi* 45, 35 (1991).
12. Hoshi, A., Ikekawa, T., Ikeda, Y., Shirakawa, S., Iigo, M., Kuretani, K. and Fukuoka, F.: *Gann* 67, 321 (1976).
13. Kim, J.H., Lee, S.J., Han, Y.B. and Kim, J.B.: *Yakhak Hoeji* 38, 31 (1994).
14. Noguchi, M.: *Chem. Pharm. Bull.* 26, 2624

- (1978).
15. Ozaki, Y., Suzuki, H. and Satake, M.: *Yakugaku Zasshi* 113, 63 (1993).
16. Mosmann, T.: *J. Immunol. Methods* 65, 55 (1983).
17. Kotnik, V. and Fleischmann, W.R. Jr.: *J. Immunol. Methods* 129, 23 (1990).
18. Eun, J.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* 23, 248 (1992).
19. Mishell, B.B. and Shiigi, S.M.: *Selected methods in cellular immunology*, W.H. Freeman and Company, pp. 186~208 (1979).