

인체 위암세포에서 고삼의 세포사멸효과

임보라, 이희정, 김민철, 김형우¹, 김병주

부산대학교 한의학전문대학원 양생기능의학부, ¹약물의학부

Effects of Apoptosis of Sophorae Radix on Human Gastric Adenocarcinoma cells

Bora Lim, Hee Jung Lee, Min Chul Kim, Hyung Woo Kim¹, Byung Joo Kim

Division of Longevity and Biofunctional Medicine, ¹Division of Pharmacology School of Korean Medicine, Pusan National University

Objective : The purpose of this study was to investigate the anti-cancer effects of Sophorae Radix and the effects of 5-Fluorouracil (5-FU) in human gastric adenocarcinoma cells (AGS).

Method : We used human gastric adenocarcinoma cell line, AGS cells. We examined cell death by MTT assay and caspase 3 assay with Sophorae Radix. To examine the inhibitory effects of Sophorae Radix, cell cycle (sub G1) analysis was done the AGS cells after three days with Sophorae Radix. The reversibility of Sophorae Radix was examined on one day to five days treatment with 100 µg/ml Sophorae Radix.

Result : Sophorae Radix inhibited the growth of AGS cells in a dose-dependent fashion. Also we showed that Sophorae Radix induced apoptosis in AGS cells by MTT assay, caspase 3 assay and sub-G1 analysis. Sophorae Radix combined with 5-FU markedly inhibited the growth of AGS cells compared to Sophorae Radix or 5-FU alone. After 3 days treatment of AGS cells with Sophorae Radix, the fraction of cells in sub-G1 phase was much higher than that of the control group.

Conclusion : Our findings provide insight into unraveling the effects of Sophorae Radix in human gastric adenocarcinoma cells and developing therapeutic agents against gastric cancer.

keywords : Sophorae Radix, Human Gastric Adenocarcinoma Cell, AGS, 5-Fluorouracil

I. 서 론

세계적으로 위암의 발생 자체는 현저히 감소되는 추세이나, 아직도 일본, 한국, 남미와 동유럽국가를 중심으로 많이 발생되고 있다.¹⁾ 특히 우리나라에서 가장 흔한 위암은 연간 약 20,000명 정도가 발생된다고 하며,

이중 수술로 완치가 가능한 조기 위암은 수술을 받은 환자의 약 40% 정도라고 알려져 있다. 따라서 아직도 많은 경우의 진행위암 환자들은 위암의 진단법이나 조직학적 분류, 분자학적 생물학 및 치료법에 많은 진전이 있었음에도 불구하고 비록 근치적 절제 수술을 시행 받았더라도, 수술 후 국소재발이나 원격전이기가 많아 예후가 나쁘기 때문에 고식적이기는 하여도 항암 화학요법의 중요성이 증폭되고 있다.^{1,2)} 현재 사용하고 있는 항암제들은 생체에 대한 독성이 심하여 정상적인 세포의 대사를 크게 억제하여 항암제의 사용에 커다란

□ 접수 ▶ 2012년 2월 9일 수정 ▶ 2012년 3월 24일 채택 ▶ 2012년 3월 26일
□ 교신저자 김병주, 경남 양산시 물금읍 범어리 부산대학교 한의학전문대학원
Tel 051-510-8469 Fax 051-510-8420 E-mail vision@pusan.ac.kr

장애로 나타나고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 부작용이 적은 새로운 항암제의 개발에 중점을 두고 있으며 특히 천연물로부터 유용한 항암제를 개발 하려는 노력이 시도되고 있다.³⁾

고삼은 콩과에 속하는 다년생 초본식물인 도둑놈의 지팡이(*Sophora flavescens Aiton*)라는 식물의 뿌리로 한방에서는 이 식물의 뿌리를 약제로 이용한다.⁴⁾ 우리나라 전역에 자생하고 성질은 차고 무독하며 강한 쓴맛을 지니고 있으며⁵⁾ 항부정맥 등에 효능이 있다고 알려져 있다.⁶⁾ 또한 한방에서는 황달, 간질, 해열, 이뇨, 진통, 구충제 내복용으로 쓰이고 있으며, 강장제로 민간 약제로 이용되어 왔다.⁷⁻⁹⁾

고삼에 의한 항암효과는 많은 논문에서 연구가 되어 지고 있다. 간 세포성 암(hepatocellular carcinoma) 세포에서 proapoptotic protein Bax의 발현이 증가되고, NF-kappa B 기전이 억제되어 항암효과가 나타났다.¹⁰⁻¹¹⁾ 유방암세포에서는 Bcl-2/Bax의 비율이 감소되고, VEGF (vascular endothelial growth factor)와 VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor)-2의 발현이 감소되며, caspase-3와 caspase-9의 활성이 증가되어 항암효과가 나타난다고 알려지고 있다.¹²⁾ 또 췌장암세포에서는 Fas가 증가하면서 세포사멸이 나타나고¹³⁾ 골수종 (myeloma) 세포에서는 미토콘드리아의 기능 이상에 따른 세포 사멸이 나타난다.¹⁴⁾ 위암세포에서는 고삼에 의한 Fas/FasL 경로를 통한 세포사멸에 관한 연구가 되었고, translation 요소인 eIF4E의 활성을 억제시킨다는 보고가 있다.¹⁵⁻¹⁶⁾ 또한 진행성 위암에 고삼 추출물과 시스플라틴을 병용 치료했을 때 치료 효과와 안정성에 대한 메타 연구를 통해 시스플라틴만 단독으로 사용하는 것보다 치료 효과와 삶의 질(QOL)을 향상시키는 것으로 밝혀낸 바가 있다.¹⁷⁾

하지만 항암제로서의 고삼 효과와 항암제의 효과를 증가시키는 보조제로서의 역할에 관한 체계적인 연구는 이루어지지 않았다. 이에 본 연구에서는 고삼 추출물을 이용하여 위암세포에서의 항암효과를 알아보고 항암제에 대한 병용투여로 항암의 효과를 증진시키는 효과를 관찰하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 약제

본 실험에 사용된 고삼(苦蔘, *Sophorae radix*, SR)은 콩과에 속한 고삼 *Sophora flavescens Aiton*의 주피를 벗긴 근으로 2010년 10월 경북 상주에서 생산된 것을 화림제약 (부산, 한국)을 통하여 구입하였다. 세척되고 세절된 상태로 구입된 50 g을 분쇄기로 분쇄한 다음, 에탄올 1,000 ml를 이용하여 상온에서 48시간 추출하였다. 추출액을 원심분리하여 얻은 상층액을 와트만지 (Watman paper)를 이용하여 2회 반복 여과한 후, 감압농축기 (EYELA, Japan)를 이용하여 감압 농축하였다. 감압 농축된 추출액은 동결 건조되었으며, 최종적으로 얻어진 추출물은 6.43 g으로 수율은 12.9%였다.

2) 대상 세포주

이 실험에 사용한 인체 유방암세포는 서울대학교 암세포주 은행에서 구입한 위암 세포주 AGS이며, adenocarcinoma의 histopathology 특징을 나타내고 있다.

2. 방법

1) 암세포의 배양

암세포주는 10% fetal bovine serum (Gibco BRL, MD), 1% broad-spectrum antibiotics (Gibco BRL, MD)가 함유된 RPMI-1640 (Gibco BRL, MD) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ incubator (Precision Scientific Inc. NY)에서 배양하였고, 세포는 0.1% Trypsin-EDTA (Sigma, MD)를 이용하여 37°C에서 5분간 처리한 후 회수하였다.

2) MTT assay

세포 생존을 측정은 세포 배양판(12-well)에 암세포를 1 ml씩 분주하여 24시간 이상 배양 후 고삼추출물을

다양한 농도로 처리한 다음, 37°C, 5% CO₂ 하에서 72 시간 배양한 후, MTT용액 (5 mg/ml)을 배양액 최종 부피의 1/10되게 첨가 하였다. 3시간 후 배양액을 제거 하고 형성된 formazan 침전물을 dimethyl sulfoxide (DMSO) 1 ml로 녹여서 540 nm에서 흡광도를 측정 하였다.

3) Caspase 3 assay 측정

Caspase 3 assay kits를 BioMol (Plymouth, PA, USA)에서 구입하여 측정하였다. 405 nm의 흡광도에서 여러 번 측정하였다.

4) Flow cytometry를 이용한 세포주기 분석

고삼이 AGS세포의 증식을 억제하는데 있어서 세포 주기의 어느 단계를 지연시키는지 flow cytometry를 이용하여 분석하였다. 고삼을 첨가한 배지에서 3일간 배양된 AGS세포를 PBS용액으로 세척한 후, 4°C에서 30분간 70% ethanol로 고정하였다. 고정후 propidium iodide (Sigma, USA)로 DNA를 염색하여 Becton Dickinson FACStar Flow Cytometry를 이용하여 세포주기를 비교 분석하였다.

5) 통계 분석

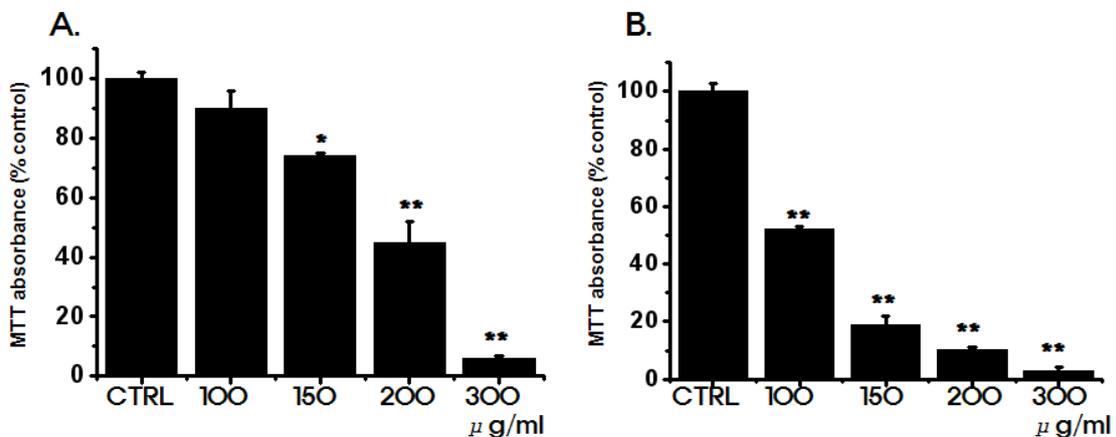
대조군과 실험군 사이의 통계학적 유의성 검정은 SPSS 16.0 (SPSS Inc, Chicago)의 Independent

t-test를 사용하였으며 유의수준 p<0.05를 사용하였다. 실험결과는 mean ± SD 또는 빈도(%)로 기재하였다.

III. 결과

1. 암세포 살상 효과

암세포 살상 효과를 측정하기 위하여 100, 150, 200, 300 µg/ml의 농도로 각각 3회씩 시험한 결과 고삼에 의한 AGS에서의 효과 2일후인 (A)에서는 200 µg/ml 이상에서 암세포 살상 효과를 볼 수 있었으며, 4일후인 (B)에서는 100 µg/ml 이상에서 뚜렷한 암세포 살상 효과를 볼 수 있었다 (Figure. 1). A에 있어서는 MTT assay로 100 µg/ml에서 90.1 ± 6 %, 150 µg/ml에서 74.1 ± 1.4 %, 200 µg/ml에서 45.3 ± 7.1 %, 300 µg/ml에서 6.2 ± 1.2 %의 세포 생존 결과를 보였다. B에 있어서는 100 µg/ml에서 52.3 ± 2.1 %, 150 µg/ml에서 19.3 ± 3.0 %, 200 µg/ml에서 10.1 ± 1.3 %, 300 µg/ml에서 3.1 ± 0.9 %의 결과를 보였다. 이러한 결과는 A, B 모두 통계적으로 유의하게 암세포 살상 효과가 있다는 것을 확인한 결과로 AGS는 고삼에 의해서 100 µg/ml 이상 농도에서 항암작용이 나타나고, 4일후에서는 150 µg/ml 이상 농도에서 뚜렷한 항암 작용이 있음을 의미한다.



(Figure 1) Effect of Sophorae Radix extract on cytotoxicity in AGS cells.

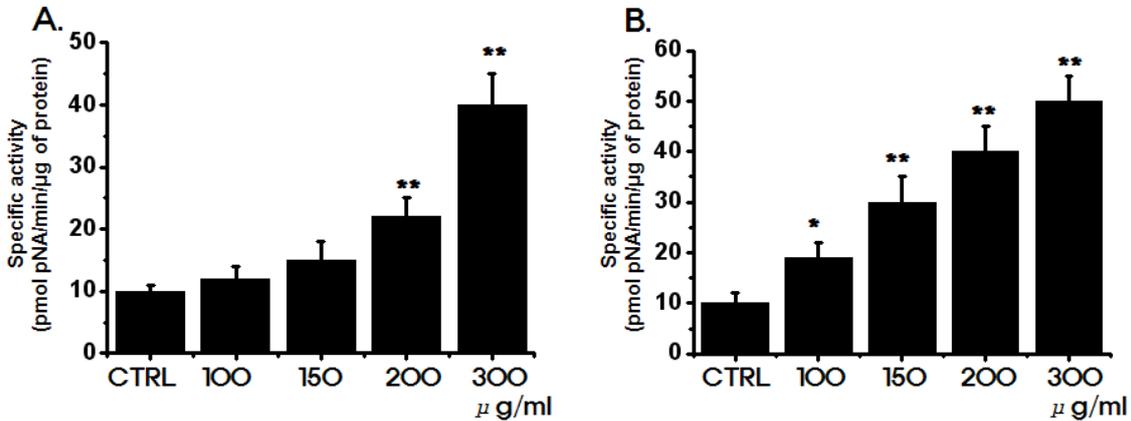
AGS cells were incubated with Sophorae Radix extract as indicated dose (µg/ml). After 2 days (A) or 4 days (B), cell viability was measured by MTT assay as described in materials and methods. The values are expressed as percent (%) of control and each column represents the mean ± S.D. *P(0.05), **P(0.01).

2. Caspase 3를 통한 암세포 사멸 확인

고삼에 의한 세포사가 apoptosis에 의한 것인지 확인하기 위하여 농도별로 세포사멸의 진행 정도를 알아보았다. Caspase는 cystinyl aspartate-specific protease로 세포질에서 pro-form으로 존재하고 특정 위치의 proteolytic 과정에 의해 활성화된다. 이로 인해 세포의 DNA 복제 및 유전자 발현과 관련된 단백질 및 핵의 구조 유지, 세포의 항상성 유지 등과 관련된 단백질들을 파괴시키거나 관련된 단백질을 활성화시켜 apoptosis를 유도하게 된다. Caspase 3 activity를 측정된 결과 고삼에 의해 caspase 3 activity가 증가함을 알 수 있다 (Figure 2).

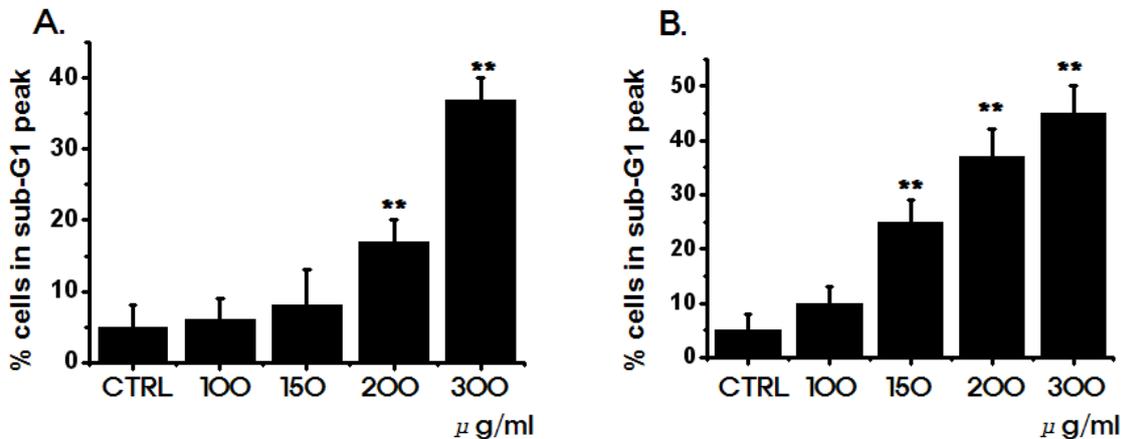
3. Flow cytometry를 이용한 세포주기 분석

고삼에 의한 세포사가 apoptosis에 의한 것인지 확인하기 위하여 flow cytometry를 이용한 세포주기 sub-G1분석을 실시 하였다. Apoptosis가 일어나면 기존의 fluorescence peak가 왼쪽으로 이동해 새로운 sub-G1 fluorescence peak가 만들어 진다. 고삼에 의한 Sub-G1 분석 결과 고삼 농도에 비례해서 sub-G1 peak가 증가함을 알 수 있다 (Figure 3).



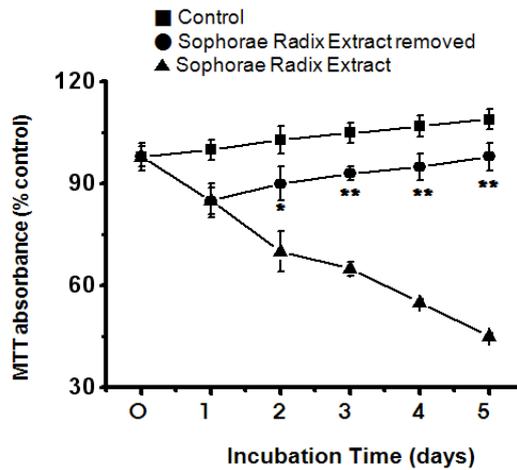
〈Figure 2〉 Sophorae Radix extract induces apoptosis in AGS cells.

Caspase 3 activities measured by enzyme assays. The specific activity was obtained from three samples per group. CTRL: AGS cells. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



〈Figure 3〉 Sophorae Radix extract leads to increase apoptosis in AGS cells.

AGS cells were incubated with Sophorae Radix extract as indicated dose (µg/ml). After 2 days (A) or 4 days (B), sub-G1 peak was measured by FACScan as described in materials and methods. The values are expressed as percent (%) of control and each column represents the mean \pm S.D. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



〈Figure 4〉 Reversibility of effects of Sophorae Radix extract in AGS cells.

Closed squares, control group; closed circles, Sophorae Radix treatment for 24 hours followed by replacement with Sophorae Radix free medium; closed triangles, Sophorae Radix treated group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Table 1. Effects of Sophorae Radix Extract (SR) and/or 5-Fluorouracil (5-FU) at varied concentrations on growth of AGS human gastric cancer cells after 3 days of treatment

SR ± 5-FU	Inhibition rate (%)
Control	0
SR (50 µg/ml)	11
SR (70 µg/ml)	30
5-FU (3µM)	12
5-FU (10µM)	61
5-FU (3µM) + SR (50 µg/ml)	35
5-FU (3µM) + SR (70 µg/ml)	69
5-FU (10µM) + SR (50 µg/ml)	85
5-FU (10µM) + SR (70 µg/ml)	97

4. 고삼의 세포 증식억제 효과의 가역성

고삼이 AGS세포의 증식 억제 작용의 가역성을 보기 위해, 대조군과 고삼 100 µg/ml을 첨가하여 24시간 동안 배양시킨 후 고삼을 제거한 군, 그리고 고삼 100 µg/ml을 첨가해서 계속 그대로 둔 군으로 나누어 관찰하였다. 접종 후 24시간 뒤에 고삼을 첨가하여 24시간 배양했다가 첨가한 고삼을 제거한 날, 즉 접종 1일째는 제거군과 제거하지 않은 군에서의 억제성이 차이가 없었고, 대조군 보다는 유의하게 낮았다. 고삼을 제거한지 3일째 즉 접종 4일째 제거군의 세포억제는 약 5% 정도로 제거하지 않았던 군의 세포억제 약 45% 보다 세포수가 현저히 많았다. 이러한 경향은 시간이 흐를수록 더욱 현저해짐을 알 수 있다 (Figure 4).

5. 고삼과 5-Fluorouracil의 세포 증식에 미치는 상호 작용

5-Fluorouracil (5-FU) 3 µM과 고삼 50 µg/ml을 같이 첨가한 군의 세포억제는 약 35%로 5-FU만을 첨가한 군(약 12% 억제) 및 고삼만을 첨가한 군(약 11% 억제)에 비해서 세포 억제가 현저히 증가하였다. 고삼의 농도를 높였을 때는 더욱 현저하여, 고삼 70 µg/ml을 5-FU 3 µM과 병용 첨가했을 때에는 배양 3일째 대조군에 비해서 약 69%의 억제 작용을 보였다. 그리고 5-FU 10 µM과 고삼을 병용 첨가했을 때에도 농도에 따르는 증식억제 효과가 각각을 따로 첨가했을 때 보다는 현저하게 증식억제 효과가 증가함을 알 수 있었다. DOX 10 µM과 고삼 70 µg/ml을 병용 투여하였을 때에는 약 97% 억제로 세포가 거의 없을 정도로 그 증식 억제 작용이 뚜렷하였다 (Table 1).

IV. 고찰

우리나라에서 1988년도부터 전체 사망원인 중 암이 제1위를 차지하게 되었고, 그 중 위암의 경우 북미 선진국에서는 감소되고 있는 추세이나, 아직도 한국, 일본 등에서는 가장 많은 빈도를 차지하고 있다. 서울 지역 암 등록소에 따르면 암환자의 23% (남자 24.7%, 여자 17.3%)가 위암 환자로 보고된다. 발병 평균 연령은 54세이며 대부분이 40~60대이나 20대의 젊은 사람들에서 발견된 경우도 3% 가량 되며 남자에서 여자보다 2배로 발생빈도가 높다.¹⁸⁾ 암의 정복을 위하여 기존의 암 치료법뿐 아니라 유전자 연구를 바탕으로 다양한 치료법이 개발되어 암의 특성에 따라 단독 또는 병용되고 있으나, 그 효능의 한계와 부작용으로 인하여 여러 가지 문제점이 야기되고 있다.¹⁹⁾ 따라서 부작용이 적은 새로운 항암제를 개발하려는 노력이 시도되고 있다.

도독놈의지팡이(*Sophora flavescens Aitton*)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생 초본식물로 너삼이라고도 부르며 우리나라 전역에 자생한다. 한방에서는 주피를 거의 벗긴 뿌리를 고삼(*Sophora Radix*)이라 한다. 고삼은 예전부터 한방에서 황달, 간질, 나력, 해열, 이뇨, 진통, 구충제 내복용으로 쓰이고, 또한 강장제로 민간 약제로 이용되어 왔으며, 또한 흉복부의 병증에서 심복결지(心腹結支), 웅(癰), 정(疔) 및 적취(積聚) 등의 치료에 사용해 왔고,²⁰⁾ 그리고 고미 건위약, 소염지사약, 심한 가려움증의 피부 질환에 전액을 외용한다. 현재 까지 알려진 고삼의 성분으로는 alkaloid, flavonoid, saponine²¹⁾ 등이 알려져 있다. 또한 다양한 연구가 진행되어 심장내피세포에서 xanthine의한 세포독성을 막는 작용,²²⁾ 항균 작용,²³⁾ 항염증 작용,²⁴⁾ 피부 미생물의 억제 효과²⁵⁾ 등이 보고 되고 있다. 또한 유방암, 간암, 골수 종 등 다양한 암세포주를 대상으로 항암제로서의 고삼 연구가 이루어지고 있으며, 암세포 사멸 유도, 증식 억제, 혈관 신생 억제 등 다양한 작용 기전을 통해 항암효과를 갖는 것으로 알려지고 있다.^{25,26)}

고삼에 의한 위암 세포주에서의 효과는 여러 논문에서 보여주고 있다. 누드마우스에서 이식된 위암세포에서 고삼과 5-FU의 병용투여시 고삼과 5-FU만의 단독 투여시보다 위암세포 사멸효과가 좋게 나왔고, 조혈

골수 세포도 감소시키는 것으로 나왔다.²⁷⁾ 또한 SGC-7901 인간 위암 세포주에서는 고삼에 의한 항암 효과에 autophagy 현상도 함께 나타나 apoptosis와 항암효과의 기전으로 제시하였다.²⁸⁾ MKN45 세포에서는 NF- κ B, XIAP, CIAP, 와 p-ERK 단백질이 고삼에 의해서 발현정도가 변하는 현상을 관찰했고 이러한 현상이 apoptosis에 의한 세포사멸에 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다.²⁹⁾ 또한 전립선암세포에서도 고삼에 의한 항암효과가 최근에 밝혀졌다.³⁰⁾

본 연구에서는 고삼에 의한 위암 세포인 AGS세포에서의 항암작용을 조사해 보았다. 2일과 4일후에 농도에 의존적으로 고삼에 의해 AGS세포가 사멸되는 효과를 보았고 (Figure 1), caspase 3과 sub-G1 analysis를 통해서 세포 사멸에 apoptosis가 관여함을 알 수 있었다 (Figure 2와 3). 또 고삼에 의한 세포 독성에 가역성이 존재함을 확인하였고 (Figure 4), 고삼과 5-FU와의 병용투여로 5-FU만 투여시 보다 좀 더 나은 세포 사멸을 확인 하였다 (Figure 5). 앞으로 어떤 분자적 기전에 의해 고삼에 의한 세포사멸이 나타나는지를 연구할 예정이며, 다양한 세포막 이온통로가 세포사멸에 관여한다는 보고가 있으므로 이온통로의 관련성을 연구할 예정이다.

김²⁷⁾ 등이 발표한 홍화에 의한 항암제와의 병용투여로 위암세포주인 AGS에서는 cisplatin, MKN에서는 Doxorubicin에 의한 세포 사멸효과가 탁월함을 확인 하였다. 본 논문에서도 고삼 단독 투여보다는 항암제와의 병용투여시 항암제의 농도를 줄일 수 있음을 알 수 있었다. 따라서 홍화와 고삼과 같은 한약제를 이용한 항암효과에 대한 체계적인 연구가 이루어 진다면, 그리고 항암작용이 있는 홍화와 고삼을 이용한 건강보조 식품 등이 개발된다면 많은 암환자들의 삶의 질 향상에 도움이 될 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Van Cutsem E. The treatment of advanced gastric cancer: new findings on the activity of the taxanes. *Oncologist*. 2004; Suppl 2:9-15.

2. Lin J, Beerm DG. Molecular biology of upper gastrointestinal malignancies. *Semin Oncol.* 2004; 31(4): 476-486.
3. 김준한, 김중국, 강우원, 하영선, 최상원, 문광덕. 홍화의 부위별 화학성분과 DPPH Radical 소거 활성. *한국식품영양과학회지.* 2003; 32(5): 733-738.
4. 한약조제사고시연구회. 한약재감별능력평가. 학문사 1996.
5. 신민교. 임상본초학. 남산당. 1986; 314-316.
6. Kee CH. The Pharmacology of Chinese Herbs. CRC Press 1993: 63.
7. 이현옥, 박남규, 정승일, 김윤철, 백승화. 고삼의 에틸 아세테이트 추출물로부터 항균물질의 분리. *약학회지* 2001; 45: 587-590.
8. 조훈, 원성란, 양은영, 김종수, 유일수, 류도곤, 이정호, 강길웅, 백승화. 고삼추출물의 항균효과(I). *약학회지* 1999; 43: 419-422.
9. 한지숙, 신동화. *Listeria monocytogenes*의 증식 억제에 미치는 팽나무 및 고삼 에탄올 추출물의 분획별 효과. *한국식품과학회지* 1994;26:539-545.
10. Ma L, Wen S, Zhan Y, He Y, Liu X, Jiang J. Anticancer effects of the chinese medicine matrine on murine hepatocellular carcinoma cells. *Planta Med* 2008; 74(3): 245-251.
11. Yu HB, Zhang HF, Li DY, Zhang X, Xue HZ, Zhao SH. Matrine inhibits matrix metalloproteinase-9 expression and invasion of human hepatocellular carcinoma cells. *J Asian Nat Prod Res* 2011; 13(3): 242-250.
12. Li H, Tan G, Jiang X, Qiao H, Pan S, Jiang H, Kanwar JR, Sun X. Therapeutic effects of matrine on primary and metastatic breast cancer. *Am J Chin Med* 2010; 38(6): 1115-1130.
13. Liu T, Song Y, Chen H, Pan S, Sun X. Matrine inhibits proliferation and induces apoptosis of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *Biol Pharm Bull.* 2010; 33(10): 1740-1745.
14. Han Y, Zhang S, Wu J, Yu K, Zhang Y, Yin L, Bi L. Matrine induces apoptosis of human multiple myeloma cells via activation of the mitochondrial pathway. *Leuk Lymphoma.* 2010; 51(7): 1337-1346.
15. Dai ZJ, Gao J, Ji ZZ, Wang XJ, Ren HT, Liu XX, Wu WY, Kang HF, Guan HT. Matrine induces apoptosis in gastric carcinoma cells via alteration of Fas/FasL and activation of caspase-3. *J Ethnopharmacol* 2009; 123(1): 91-96.
16. Jiang T, Zhu Y, Luo C, Lu X, Zhang W, Qiu F, Huang J. Matrine inhibits the activity of translation factor eIF4E through dephosphorylation of 4E-BP1 in gastric MKN45 cells. *Planta Med* 2007; 73(11): 1176-1181.
17. Huang S, Fan W, Liu P, Tian J. Meta analysis of compound matrine injection combined with cisplatin chemotherapy for advanced gastric cancer. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2011; 36(22): 3198-202.
18. 김정아, 한송이, 송호준, 채한, 권영규, 김병주. 홍화가 인체 위암세포에 미치는 효과. *동의생리병리학회지* 2010; 25: 466-470.
19. 정명채, 김진성, 윤상협, 류봉화, 류기원. 반모가 수종의 인체 암세포에 미치는 영향. *대한한방내과학회지* 2004; 25(2): 202-213.
20. 육창수, 김성만, 정진모, 정명숙, 김정화, 김승배. 한약의 약리성분. 임상응용, 계측문화사. 1995; 414-416.
21. Woo ER, Kwak JH, Kim HJ, Park H. A new prenylated flavonol from the roots of *Sophora flavescens*. *J Nat Prod.* 1998; 61(12): 1552-1555.
22. 권강범, 이호승, 김인수, 김인규, 류도곤. 고삼 추출물이 XO/HX에 의해 손상된 혈관내피세포에 미치는 영향(I). *동의생리병리학회지* 2003; 17: 549-552.
23. 백승화, 강길웅, 최은영. 고삼 메탄올 추출물의 항균 효과에 관한 연구. *기초과학연구지* 2000; 18: 111-114.
24. 우무륜, 구영선, 김동희. 고삼이 알려지성 염증 반응에 미치는 영향. *대전대학교 한의학연구원 논문집* 2006; 15: 135-148.
25. 박선영, 남윤자, 김동현. 고삼 추출액을 이용한 염색 면포의 염색성과 피부 미생물의 억제효과. *한국의류학회지* 2002; 26: 464-472.
26. 류시용. 고삼의 항암활성 및 활성성분에 관한 연구. *대전대학교 한의학연구원 논문집* 1997; 5: 503-507.
27. Hu MJ, Zeng H, Wu YL, Zhang YP, Zhang S, Qiao MM, Fu H. Synergistic effects of matrine and 5-fluorouracil on tumor growth of the implanted gastric cancer in nude mice. *Chin J Dig Dis* 2005; 6(2): 68-71.

28. Zhang J, Li Y, Chen X, Liu T, Chen Y, He W, Zhang Q, Liu S. Autophagy is involved in anticancer effects of matrine on SGC-7901 human gastric cancer cells. *Oncol Rep* 2011 ; 26(1): 115-124.
29. Luo C, Zhong HJ, Zhu LM, Wu XG, Ying JE, Wang XH, Lü WX, Xu Q, Zhu YL, Huang J. Inhibition of matrine against gastric cancer cell line MNK45 growth and its anti-tumor mechanism. *Mol Biol Rep* 2011. In press.
30. Zhang P, Wang Z, Chong T, Ji Z. Matrine inhibits proliferation and induces apoptosis of the androgen-independent prostate cancer cell line PC-3. *Mol Med Report* 2012; 5(3): 783-787.
31. 김정아, 한송이, 송호준, 채한, 권영규, 김병주. 홍화가 인체 위암세포에 미치는 효과. *동의생리병리학회지* 2011; 25: 466-470.