

백선 추출물의 간세포 손상에 대한 연구

하헌용*

세명대학교 자연약재과학과

The effects of water extract from *Dictamnus dasycarpus Turcz* on Hepatocellular Damage *in vitro*

Hun-Yong Ha*

Department of National Medicine Resources, Semyung University, Jecheon 390-711, Korea

ABSTRACT

Objectives : This study was carried out to evaluate whether the water extract from cause the cellular damage in HepG2 cell line. It was reported that *Dictamnus dasycarpus Turcz*(DDT) intake induce poisoning symptoms in human population. These symptoms was closely related to liver toxicity, however, mechanisms for liver toxicity caused by DDT have not been elucidated exactly. Here, hepatotoxicity caused by DDT was evaluated using HepG2 cell line.

Methods : Water extract of DDT was treated into HepG2 cell with various doses such as 0, 0.1, 0.5, 1.0 and 5.0 mg/ml. In order to cell viability, both MTT and LDH assay were carried out. Also, apoptosis array kit was used to identify whether cell death caused by DDT is due to apoptosis or not. In addition, reactive oxygen species (ROS) was measured after treatment of water extract.

Results : We found out significant changes in the apoptosis related factors of hepatocyte. The cell viability of HepG2 treated with DDT water extract was decreased in dose-dependent. Also most of the apoptosis related factors were significantly increased. We found out that Caspase 3, Cytochrome C and ROS had increased in dose-dependent. In addition, other apoptosis related factors Bcl 2 and Bax, which were also constant changes. However, there was no significance.

Conclusions : These results suggest that water soluble extract of DDT is expected to have oral toxicity, including hepatocellular damage. Therefore, it is suggested that DDT could cause various side effects and toxicity of clinical conditions.

Key words : *Dictamnus dasycarpus Turcz*, HepG2 cell, herbal medicine, apoptosis, toxicity, cellular damage

서론

건강에 대한 관심과 함께 천연물 및 한약재에 대한 관심이 급증하고 있으며, 그에 따른 다양한 천연물 소재의 기능성에 대한 연구와 보고가 지속적으로 증가하고 있다¹⁾. 천연물과 한약에 대한 기능성 연구는 주로 항산화, 항혈압, 항고지혈 등 만성질환에 대한 관리와 예방을 목적으로 이루어지고 있는 추세에 있다^{2,3)}. 이러한 연구와 보고는 천연물에 대한 막연한 동경을 유도하는 한편, 안전성과 유효성에 대한 근거 자료로 활용되기도 한다⁴⁾. 이러한 성과들은 일반인들로 하여금 천연

물과 한약재가 부작용 없이 안전한 소재인 것으로 오인하게 하는 요소가 되기도 한다⁵⁾. 특히 일부 천연물 소재와 한약재는 예로부터 독성이 확인된 것들로서 오늘날 그에 대한 주의와 검증을 거치지 않고 그 기능적 요소만을 강조하여 무분별하게 오·남용되고 있으며, 그로인한 부작용 또한 적지 않은 실정이다^{5,6)}.

특히 백선(*Dictamnus dasycarpus Turcz*)은 우리나라 각지에 자생하는 식물로서 일반인들이 손쉽게 얻을 수 있을 뿐만 아니라 일부에서는 '봉삼'이라는 명칭으로 자양강장 및 성기능 개선의 목적으로 사용되고 있어 그 부작용 또한 심각한

*Corresponding author : Hun-Yong Ha, Department of National Medicine Resources, Semyung University, Jecheon 390-711, Korea
· Tel : +82-43-649-1416 · FAX : +82-43-649-1729 · E-mail : hahunyong@hotmail.com
· Received : 4 August 2014 · Revised : 2 September 2014 · Accepted : 11 September 2014

실정이다. 실제로 백선을 복용한 뒤 응급실에 내원하여 치료를 받은 환자가 다수이며, 이에 대한 임상사례연구 또한 꾸준히 진행되고 있다⁷⁻⁹⁾. 특히 백선의 복용으로 인한 부작용에는 황달, 부종, 복수 등 간기능의 이상으로 인한 증상이 대부분을 차지하고 있으며, 백선을 복용한 뒤 그 부작용으로 치료를 받은 환자들의 병리소견에서는 담즙정체, 간세포 재생변화, 쿠퍼세포 증식, 염증세포 침식 등을 보인 예가 있으며, 백혈구와 혈소판의 수치에도 영향을 주는 것으로 알려져 있다⁷⁻¹⁰⁾. 반면 최신의 연구를 통하여 백선에는 뇌세포 보호 작용이 있으며¹¹⁾, NO 및 iNOS의 생성을 억제할 뿐만 아니라 염증매개물질인 TNF- α , IL-1 β , IL-6 등 염증반응과 관련된 인자들을 억제함으로써 항염 활성이 있음이 확인되었다¹²⁾. 이러한 항염 효과는 최근 유행률이 높게 나타나는 아토피성 피부질환에도 효과가 있는 것으로 알려지고 있다. 또한 죽상동맥경화에 대해서도 일정한 억제작용이 있는 것으로 보고되어 있다¹³⁾.

백선은 운향과(Rutaceae)에 속한 다년생 초본으로 한약재로 사용할 때는 근경의 심을 제거하고 수세(水洗)하여 독성을 감약시킨 뒤 사용한다¹⁴⁾. 백선은 白羶, 北鮮皮, 白羊鮮, 白舌皮, 八股牛, 地羊鮮, 臭根皮, 金雀兒椒, 野花椒皮, 酸醬秧根, 大趕杖葉根 등의 이명으로도 불린다¹⁵⁾. 주요 약리활성 성분으로는 psoralen, xanthotoxin, scopoletin, dasycarpamin, dictamnol, obacunone 등을 함유하고 있으며, 항균, 심근흥분, 혈관수축, 자궁수축, 염증억제, 항암 등의 효능이 알려져 있다¹⁴⁾.

이에 본 연구에서는 백선의 간세포에 대한 영향을 세포 수준에서 고찰함으로써 백선의 세포독성에 대한 독성발현기전을 파악하고 무분별한 생약자원의 남용에 대한 경각심을 제고하기 위하여 인체유래 간세포를 이용하여 세포 영향성 인자의 변화에 대한 조사를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험용 추출물 제조

본 연구에서 사용한 백선은 (주)퓨어마인드(yongchoen, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험용 시료제조를 위하여 백선피 500g을 추출기에 넣고 증류수를 4ℓ를 넣은 후, 약 110℃로 4시간동안 추출하고 나온 추출액을 병에 담았다. 열이 적당히 식으면 여과지로 여과하여 냉동으로 보관하고 추출액을 감압농축기로 농축을 실시하였다. 농축된 시료를 동결건조기로 약 3일 동안 동결건조 하여 수득률 23.7%로 백선추출물 23.5mg을 얻었으며 이를 실험에 사용하였다.

2. 실험용 간세포 배양

본 연구에 사용한 HepG2 cell line은 ATCC, USA(CAT, HB-8065)에서 분양받아 사용하였으며, 배지는 Eagle's Minimum Essential Medium(ATCC, Cat No. 30-2003)에 10% Fetal Bovine Serum(FBS, ATCC, Cat No. 30-2020)를 혼합하였고 1% Penicillin Streptomycin (Gibco, Cat no. 15140-122)을 첨가하여 제조하였다. 또한 습도 95%, CO₂ 5%, 온도 3

7℃ 등의 조건에서 배양하여 사용하였다.

3. 단백질 추출 및 정량

세포자살과 관련된 단백질의 추출을 위하여 시료를 처리한 resuspend cell에 200 μ l PRO-PREP™ (Intron, Cat No. 17081) 용액을 첨가하여 풀어준 후, 얼음에서 20분간 incubation한 뒤, 13,000rpm, 4℃에서 5분간 원심분리하여 그 상등액을 취하였다. 또한 단백질의 정량을 위하여 단백질 추출 상등액 100 μ l와 BCA(bicinchoninic acid) protein assay kit(Thermo, Cat No. 23225)의 working reagent 2,000 μ l을 혼합한 뒤 37℃에서 30분간 반응시켰다. 이를 ELISA reader(Bio-TEK instrument, ELx808)를 이용하여 565nm에서 측정하였다.

4. 시험 방법

1) MTT assay

계대배양을 거친 HepG2 cell을 96 well plate에 2 \times 10⁵ cells/well의 농도로 분주한 뒤, 24시간 동안 배양하였다. serum-free EMEM으로 교체해준 후에 백선추출물을 0, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0mg/ml로 처리하였으며, 24시간(48시간) 배양 후 media를 걸어내고 20 μ l의 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT, 5mg/ml)을 넣은 뒤, CO₂ 배양기에서 2시간 배양하였다. 100 μ l의 DMSO로 결정을 용해시킨 후에 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 생존율은 control과 비교하여 %로 표시하였으며, 세포에 처리한 샘플에 포함된 DMSO는 최종농도 0.1%에 맞추었다.

2) LDH assay

세포배양 및 시료의 처리는 MTT assay와 동일한 방법으로 수행하였으며, LDH elisa kit(Abcam, Cat. ab65393)를 이용하여 측정하였다.

3) Apoptosis array

백선의 인체유래 간세포에 대한 영향을 조사하기 위하여 apoptosis array kit를 이용하였다. 먼저 정량한 단백질 중 250 μ g을 취하여 apoptosis array kit (RnDsystems, Cat No. ARY009)의 array buffer를 첨가한 최종부피가 1.5 ml이 되도록 한 후, 4℃에서 12시간 이상 blocking 하였다. Transfer를 마친 membrane은 비특이적인 단백질 결합을 막기 위하여 20ml의 wash buffer 용액으로 10분간 3회 세척하였고, antibody를 1.5ml 첨가하여 1시간 반응한 후 일련의 세척과정을 마쳤다. Streptavidin-HRP를 2ml 첨가하여 30분의 반응 및 일련의 세척과정을 마친 후, Chmi Reagent를 1:1로 섞어 membrane 위에 가하여 발광시키고, Image Analysis System (ChmiDoc™ XRST with Image Lab™ software, BIO-RAD)을 이용하여 caspase-3, cytochrome C, Bax 및 Bcl-2의 값을 측정하였다.

4) ROS assay

ROS에 의한 세포의 산화적 스트레스 정도를 조사하기 위

하여 ROS detection assay kit를 이용하였다. 먼저 96 well plate의 각 well에 세포주(HepG2) 1×10^4 cells/ml을 $100 \mu\text{l}$ 씩 넣고 24시간 동안 이산화탄소 배양기에서 배양하였다. DPBS로 각 well을 세척한 후, DCFDA Cellular ROS Detection Assay Kit(Abcam, Cat No. ab113851)의 2',7'-dichloro fluorescein diacetate(DCFDA)이 포함된 형광염료를 각 well에 $100 \mu\text{l}$ 씩 첨가하여 30분간 이산화탄소 배양기에서 배양하였다. DCFDA를 제거한 후 시험물질을 포함한 배양액 $100 \mu\text{l}$ 를 넣고 24시간 동안 배양하였다. 이후 세포의 형광광도(Bio-TEK instrument, Synergy2)를 측정하였다.

5. 통계처리 및 결과 판정

본 시험에서 얻은 측정치들은 ANOVA 분석을 실시하였으며, 최종 검정은 Dunnett's t-test를 이용하여 통계학적 유의성을 검정하였다($p < 0.05$).

결 과

1. HepG2 cell에 대한 세포독성

MTT 및 LDH assay를 통하여 백선 추출물의 HepG2 cell에 대한 독성이 농도 의존적으로 증가하는 것을 알 수 있었으며, IC_{50} 은 $5.0 \text{ mg/ml}/48\text{h}$ 로 확인되었다(Fig. 1).

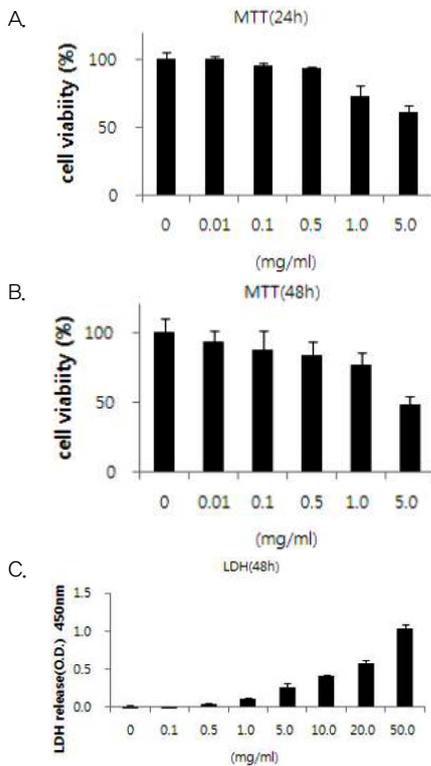


Fig. 1. MTT assay, A: concentration of treated *Dictamnus dasycarpus Turcz.* ($0.01 \sim 5.0 \text{ mg/ml}$) for 24hr. B: concentration of treated *Dictamnus dasycarpus Turcz.* ($0.01 \sim 5.0 \text{ mg/ml}$) for 48hr. C: concentration of treated *Dictamnus dasycarpus Turcz.* ($0.1 \sim 50.0 \text{ mg/ml}$) for 48hr. Values are represented as percentage relative to control. Results are presented as mean \pm S.D.

2. Caspase 3 생성에 미치는 영향

백선 추출물을 0, 0.1, 1.0, 5.0 mg/ml 로 처리한 뒤 apoptosis array kit를 이용하여 Caspase 3의 생성을 측정한 결과 농도가 증가함에 따라 발현량이 증가하는 것을 확인 하였다(Fig. 2).

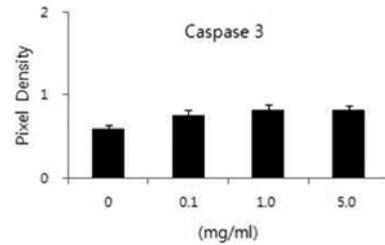


Fig. 2. Effect of *Dictamnus dasycarpus Turcz.* on Caspase 3 expression in HepG2 cell. Cells were treated with indicated concentration of *Dictamnus dasycarpus Turcz.* Result are presented as mean \pm S.D.

3. Cytochrome C 생성에 미치는 영향

백선 추출물을 0, 0.1, 1.0, 5.0 mg/ml 로 처리한 뒤 apoptosis array kit를 이용하여 Cytochrome C의 생성을 측정한 결과 농도가 증가함에 따라 발현량이 증가하는 것을 확인 하였다(Fig. 3).

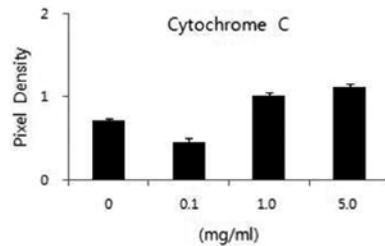


Fig. 3. Effect of *Dictamnus dasycarpus Turcz.* on Cytochrome C expression in HepG2 cell. Cells were treated with indicated concentration of *Dictamnus dasycarpus Turcz.* Result are presented as mean \pm S.D.

4. Bcl 2 생성에 미치는 영향

백선 추출물을 0, 0.1, 1.0, 5.0 mg/ml 로 처리한 뒤 apoptosis array kit를 이용하여 Bcl 2의 생성을 측정한 결과 최저 농도에서 가장 많이 증가하였으며 농도가 높아질수록 대조군과 차이가 감소하는 것을 확인 하였다(Fig. 4).

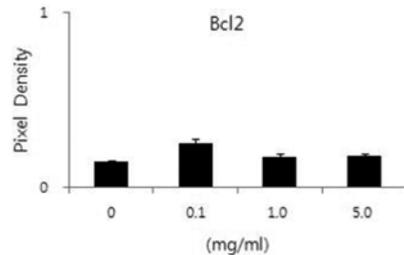


Fig. 4. Effect of *Dictamnus dasycarpus Turcz.* on Bcl 2 expression in HepG2 cell. Cells were treated with indicated concentration of *Dictamnus dasycarpus Turcz.* Result are presented as mean \pm S.D.

5. Bax 생성에 미치는 영향

백선 추출물을 0, 0.1, 1.0, 5.0 mg/ml 로 처리한 뒤 apoptosis

array kit를 이용하여 Bax의 생성을 측정한 결과 최저 농도에서 발현이 감소하였으나, 농도가 높아질수록 대조군과 비교하여 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 5).

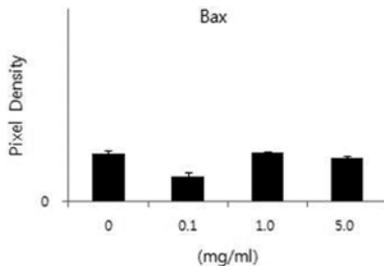


Fig. 5. Effect of *Dictamnus dasycarpus Turcz* on Bax expression in HepG2 cell. Cells were treated with indicated concentration of *Dictamnus dasycarpus Turcz*. Result are presented as mean \pm S.D.

6. ROS 생성에 미치는 영향

백선 추출물의 HepG2 cell에 대한 ROS 생성량을 측정하기 위하여 0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0mg/ml로 처리한 뒤 ROS detection assay kit를 이용하였다. 그 결과 농도 의존적으로 ROS의 생성량이 증가하였으며, 5.0mg/ml에서 급속하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 6).

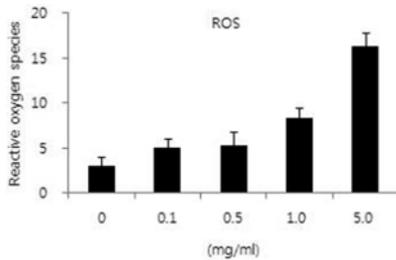


Fig. 6. Effect of *Dictamnus dasycarpus Turcz* on ROS expression in HepG2 cell. Cells were treated with indicated concentration of *Dictamnus dasycarpus Turcz* for 24 hr. Result are presented as mean \pm S.D.

고찰

널리 알려진 자생식물 가운데 백선은 봉삼 혹은 봉황삼이라는 명칭으로 민간에 알려지면서 최근 그 부작용 사례가 적지 않게 발생하고 있다⁷⁻¹⁰. 또한 식물자원이 비교적 풍부하고 일반인이 손쉽게 채취하거나 구입이 가능하기 때문에 오남용으로 인한 부작용과 위험성이 항상 존재한다^{16,17}. 한약재로 유통되는 규격 한약 이외에 자연 상태에서 채취되는 백선은 특별한 규제 없이 일반에서 구매와 사용이 가능하며, 전문가의 조언이나 정확한 진단 없이 백선을 복용함으로써 여러 부작용과 치명적인 상황을 초래하기도 한다. 특히 민간에서 사용되는 백선은 규격품 한약과는 달리 적절한 포제과정을 거치지 않기 때문에 더욱 위험성에 대한 고찰이 필요하다. 따라서 백선을 포함한 천연물 유래 생약과 한약의 안전성에 대해 지속적이고 체계적인 연구가 이루어져야 할 필요가 있다^{18,19}.

예로부터 한의서에 수재되었거나 민간에서 사용되어온 약용식물이 그러하듯이 백선의 경우에도 국내에서 오랜 기간 동안 한의처방과 피부과 질환에 빈번하게 사용되어 왔기 때문에

비교적 안전한 약용자원이라는 오해를 받고 있다. 그러나 백선은 반드시 포제의 과정을 거쳐 제한적으로 경구투여에 사용되어야 하며, 주로 외용으로 사용하여 염증성 질환 및 각종 피부질환에 대해 다양한 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다^{14,20}. 백선의 성질은 한(寒)하고, 맛은 고향(苦咸)하며, 비장과 위에 주로 작용하여 청열조습(淸熱燥濕), 거풍지양(祛風止癢)하는 작용이 있어 풍진, 습진, 개선, 황달 및 습열비증(濕熱痺症) 등의 습사(濕邪)로 인한 피부질환을 치료하는 약물로 사용되어 왔다²⁰. 최근에는 백선이 가지고 있는 다양한 효능, 효과가 과학적으로 입증되고 새로운 효능이 발견되는 추세에 있어 더욱 관심의 대상이 되고 있다^{11,12,21}. 따라서 백선피의 안전성에 대한 과학적 검증이 반드시 필요한 사항이며, 이를 토대로 백선의 다양한 활용분야를 개발할 수 있을 것으로 기대한다.

본 연구에서는 백선의 인체유래 간세포에 대한 세포사멸 관련 인자들에 대한 변화를 관찰함으로써 동물실험과 임상에서 발견되는 백선에 의한 간독성의 과학적 근거를 뒷받침하고자 하였다. 세포사멸(Apoptosis)은 세포 내·외부의 여러 가지 요인에 의해서 세포 스스로가 파괴되는 일련의 과정을 말한다. 이러한 세포사멸과 관련된 여러 가지 인자들이 밝혀져 있으며, 본 연구에서는 이들 가운데 Caspase 3, Cytochrome C, Bcl 2, Bax, ROS 등의 변화를 측정함으로써 백선의 인체 간세포에 대한 영향을 확인 하였다.

결과에서 알 수 있듯이 Caspase 3, Cytochrome C, ROS 등은 농도 의존적으로 발현이 증가하였다. 또한 Bcl 2과 Bax의 생성에 있어서도 뚜렷한 유의성을 보이지는 않았으나, 일정한 변화를 나타내는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 백선이 인체세포 특히 간세포에 대한 민감성을 나타낸다는 증거이며, 과량 혹은 장기간의 경구투여가 인체 간세포에 일정한 손상을 줄 수 있음을 시사한다. 이 같은 결과를 통하여 학계에 보고되어 온 백선 관련 중독과 부작용에 대하여 일정부분 근거를 제시할 수 있을 것으로 사료된다.

결론

1. 백선추출물은 HepG2 cell에 대하여 농도 의존적으로 독성을 나타내었으며, IC₅₀은 5.0mg/ml(48hr)로 확인되었다
2. 백선추출물은 HepG2 cell에 대하여 Caspase 3, Cytochrome C의 생성을 농도 의존적으로 증가시켰으며, 이를 통하여 백선이 인체 간세포의 Apoptosis를 유발하거나 촉진하는 물질임을 알 수 있었다.
3. 백선추출물은 HepG2 cell에 대하여 ROS(Reactive Oxygen Species)의 생성을 증가시켜 세포 내에 산화적 스트레스를 유발함으로써 세포의 생존율에 영향을 주는 것으로 확인되었다.
4. 백선추출물은 HepG2 cell의 Bcl 2과 Bax의 생성에 대하여 농도 의존적인 변화를 보이는 않았으나, 일정한 변화를 나타내었으며, 이 또한 백선이 인체 간세포에 대

하여 특정한 영향을 미칠 수 있음을 시사한다.

5. 백선은 인체 유래 간세포 HepG2 cell의 세포자살과 관련된 여러 인자들의 생성 및 발현을 유도하며, 이를 통하여 간세포의 기능이상 및 사멸에 관여하는 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2013학년도 세명대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Lee MH, Jo DJ, Yoon SR, Lee GD. Physicochemical properties of functional herb mixtures. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2007 ; 36(12) : 1571-7.
2. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower(*Carthamus Tinctorius L.*). *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2000 ; 29 : 1127-32.
3. Mun SP, Koo DS, Park SB, Kwon SD. Characteristics of bamboo smoke distillates made by three kinds carbonization kiln. *Korean Soc Food Sci Technol Annual Meeting.* 2000 ; 1 : 252-57.
4. Lee JM, Son ES, Oh SS, Han DS. Contents of total flavonoid and biological activities of edible plants. *Korean J Dietary Culture.* 2001 ; 16 : 504-14.
5. Ahn DK, Kim CS. A study on the side effect of crude drugs. *Kor J Pharmacogn.* 1983 ; 14(3) : 102-6.
6. Hwang SY, Kwon W, Chai HY, Cho YM, Lee NJ, Ryu JM, Sin JS, Kim TM, Cho JH, Kim EJ, Park JH, Kang JK, Kim YB. Four-week repeated-dose toxicity study on Mori Radicis Cortex. *Korean J Lab Animal Sci.* 2004 ; 20(3) : 283-90.
7. Jung JH, Kim SH, Ko KH, Jung KH, Hwang SW, Goh PG, Park NH, Nam GW, Kim JI, Moon HS, Lee ES. Clinical features of 28 acutely toxic hepatitis patients who ingested *Dictamnus Dasycarpus*: A single center clinical experience. *Korean J Med.* 2010 ; 78(4) : 457-65.
8. An SY, Cheng JY, Kim SS, Lee DM, Seok JY, Kim YB, Cho SW. One case of fulminant hepatic failure related to *Dictamnus Dasycarpus*. *Korean J Med.* 2010 ; 78(4) : 490-4.
9. Lee JH, Lee HY, Koh KC, Lee JK, Rhee PL, Kim JJ, Paik SW, Rhee JC, Oh YR, Chi YJ. Drug induced liver disease caused by ingestion of *Dyctamnus Dasycarpus*. *Korean J Gastroenterol.* 1998 ; 31(2) : 251-7.
10. Kim SH, Cho WY, Kim GH, Jang JY, Shim CS, Kim BS, Jin SY. Case reports: Gastroenterology; A case of acute hepatitis caused by ingesting *Dictamnus Dasycarpus*. *Korean J Med.* 2009 ; 76(4) : 476-80.
11. Choi HG, Lee DS, Li B, Jun KY, Jeong GS, Kim YC. Neuroprotective effect of the water-insoluble fraction of root barks of *Dictamnus Dasycarpus* 70% ethanolic extract on glutamate-induced oxidative damage in mouse hippocampal HT22 cells. *Kor J Pharmacogn.* 2011 ; 42(2) : 175-81.
12. Park JS, Shin TY, Kim DG, Lee JH. The effects of Dictamni Radicis Cortex on the iNOS expression and proinflammatory cytokines production. *Kor J Pharmacogn.* 2011 ; 42(4) : 348-53.
13. Qin M, Guo HB, Xu Y. Cortex Dictamni inhibits formation of early atherosclerotic lesions in apoE-deficient mice. *ACTA Laboratorium Animalis Scientica Sinica.* 2010 ; 18(3) : 191-5.
14. Hu XM, Zhang WK, Zhang HJ, Dong HM, Xie KW, Wu BX. *Zhonghwabencao jingxuanben*. 2nd ed, Shanghai : kejichubanshe. 1998 : 1023-6.
15. Ha HY. The another name of herbal medicine. 1st ed, Seoul : passanpass. 2007 : 460.
16. Kim KS. Present status and perspectives of medicinal plant resources in korea. *Res Nati Resources.* 1999 ; 2 : 25-41.
17. Kang BH. Ecological flora of surrounding resource plants for biological diversity and green survival. 1st ed, Paju : Korean Studies Information. 2013 : 316.
18. Kweon KT. A reasearch on management system of herbal medicine in common use for food and medicine. *Kor J Herbology.* 2012 ; 27(2) : 25-9.
19. Kim SK, Jang HC, Kim JH, Kim C, Yea SJ, Song MY. A searching service of toxic and contraindicating information of medicinal materials in traditional korean medicine. *Korea J Orient Med.* 2011 ; 17(3) : 69-76.
20. Jeong HW, Jeon BH. The cytotoxic effect of Dictamni Cortex Radicis and Manitis Squama on human cancer cell-lines. *Korean J Orient Physiol Pathol.* 1997 ; 11(1) : 58-64.
21. Han MH, Lee MH, Hong SH, Choi YH, Moon JS, Song MK, Kim MJ, Shin SJ, Hwang HJ. Comparison of anti-inflammatory activities among ethanol extracts of sophora flavescens, Glycyrrhiza Uralensis and *Dictamnus Dasycarpus*, and their mixtures in RAW 246,7 murine macrophages. *J Life Sci.* 2014 ; 24(3) : 329-35.