

궁귀탕의 항 돌연변이 활성

유영범 · 심범상 · 안규석 · 최승훈 · 김호철* · 박종철** · 조성기***

Antimutagenicity of the water extract of Gunguitang

Young-Beob Yu, Bum-Sang Shim, Kyu-Suk Ahn,
Seung-Hun Choi, Ho-Cheol Kim*, Jong-Cheol Park**, Sung-Kee Jo***

Dept. of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

**Dept. of Herbal Pharmacology, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung-Hee University*

***Dept. of Oriental Medicine Resource, Suncheon National University*

****Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute*

In the present studies, decursinol angelate, decursin isolated from *Angelica gignatis radix* and oil fraction of *Cnidii rhizoma* was analyzed by normal phase HPLC and GC/MS respectively. The standardized water extracts of *Angelica gignatis radix*, *Cnidii rhizoma* and its complex named Gung-gui-tang was tested the anti mutagenic effects by *in vitro* genotoxicity using *Salmonella* reversion assay (Ames test) and micronucleus test in chinese hamster ovary(CHO) cells. *Angelica gignatis radix*, *Cnidii rhizoma* and Gung-gui-tang was not exhibited the antimutagenic effects in the *Salmonella* reversion assays with or without metabolic activation. However, the micronucleus test assays, *Angelica gignatis radix* and Gung-gui-tang was showed the antimutagenic effects significantly. The maximum inhibition observed with Gung-gui-tang was reduced by 59% in the micronucleus test without metabolic activation. In this paper, results are presented on the availability of potential antimutagenic activity of the water extracts of Gung-gui-tang.

Key words : *Angelica gigas Nakai*, *Cnidium officinale*, HPLC, GC/MS, Ames test, micronucleus test, Antimutagenicity

경희대학교 한의과대학 병리학교실

* 경희대학교 동서의학대학원 한약리학교실

** 순천대학교 한약자원학과

*** 한국원자력연구소 방사선식품생명공학팀

I. 서 론

궁귀탕(芎芎湯), 불수산(佛手散)등으로 불리는 궁귀탕(芎歸湯)은 횡산(橫産)이나 역산(逆産) 또는 태아가 배속에서 죽어 나오지 않는 것, 혈붕(血崩)이 멎지 않는 것 등을 치료하고, 해산할 달에 먹으면 태아가 줄어들어서 쉽게 해산하며 해산 후에 먹으면 낫은 피가 잘 나온다고 동의보감에 기록하고 있다(허준, 1983). 유중임(柳重臨)의 증보산림경제(增補山林經濟) 구급편(救急篇)에는 혈훈(血暈)을 치료하는데 이용한다고 기록하고 있으며, 단계심법(丹溪心法)에는 장풍(腸風), 장독(臟毒)을 치료한다고 기록되어 있다(주진형, 1999).

처방구성이 단순하고 이용빈도가 높은 궁귀탕은 주로 부인과 질환을 다스리는 약재인 당귀(*Angelica gigas* Nakai)와 천궁(*Cnidium chuanxiong* var. *officinale*(=*Cnidium officinale*))으로 구성되어 있다. 당귀의 性味는 辛溫하고 빈혈, 월경불순 등에 이용하며, 그 유효한 활성 성분은 decursin, decursinol angelate 등의 coumarin 성분이 주로 알려져 있다. (Ahn et al., 1996; Ahn et al., 1997) 특히 중국 당귀인 *Angelica sinensis* 와, 일본당귀인 *Ligusticum actilobum*은 외부, 내부형태학적 차이 뿐만 아니라 성분면에서도 다소 차이가 있는 것으로 알려져 있어 그 표준화에 여러 연구들이 이루어졌다(홍 et al., 1990; 육 et al., 2000, 2001). 천궁은 두통, 月經不調 등에 이용되며 기원면에서 우리나라의 한약규격집에서는 산형과에 속한 천궁 *Cnidium officinale* MAKINO의 뿌리줄기를 그대로 또는 열탕에 데친 것으로 규정되어 있다. 중국의 약전에서는 *Ligusticum chuanxiong* HORT.로 규정되어 있으며 일본 약국방에서는 우리나라와 같은 종으로 규정되어 있다(이 et al. 1999; 육 et al., 2001). 본 연구에서는 궁귀탕의 구성약재인 당귀와 천궁

의 유효성분을 HPLC와 GC/MS로 정량, 정성분석하였으며, 표준화된 당귀와 천궁 그리고 이들의 합방인 궁귀탕의 돌연변이 유발 억제활성을 *Salmonella thyphimurium* TA 98, 100 균주를 이용한 Ames test와 배양된 Chinese hamster ovary(CHO)세포를 이용한 Micronuclei induction test(소핵시험법)로 실시하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

시료의 조제

실험에 사용한 당귀는 강원도 정선에서 산지로부터 직접 구입하였고, 천궁은 국산 천궁을 경북 영양에서 산지로부터 직접 구입하여 사용하였다. 시료는 경희대학교 한의과대학 병리학교실에 보관중이다. 궁귀탕은 동의보감을 원방으로 하여 조제 하였다. 즉 당귀, 천궁 각 20g을 10배량의 D.W로 약탕기에서 반량으로 조제하여 감압농축기로 농축하여 동결건조 한 후 실험직전에 여과(0.45um)하여 사용하였다.

HPLC에 의한 당귀의 유효성분 정량

기 기 : HPLC 기기 및 분석조건은 Table 1과 같이 하였다. 추출 및 분리: 그늘에서 말린 참당귀 뿌리 500 g을 Scheme 1과 같이 70% EtOH 2L로 추출한 후 $CHCl_3$ 로 분획하여 toluene: diethylether (1:1, 9:1)로 silica gel column chromatography를 실시하여 coumarin 계열의 mixture를 얻었고 이를 Hexane: EtOAc (15:1)로 rechromatography를 실시하여 decursin과 decursinol angelate를 각각 얻어 표준품으로 이용하였다. (유 et al, 2000)

표준액의 조제 : Decursin 표준품 10mg을 메탄올에 녹여 10 mL로 정용하였다. 이 액을 다시 500 μ L를 정취하여 메탄올로 2.5mL가 되게 하였다.

검액의 조제 : 당귀 20g을 물로 세척한 후 그늘에 말려 분말로 한 후 3g을 정밀히 달아 ether 150mL을 가하여 45-50 $^{\circ}$ C 수욕상에서 4시간 속시렛 추출하고 냉각 후 여과하였다. 여액을 감압건고 후 잔류물을 메탄올로 녹이고 정밀히 100 mL로 하여 여과하였다. 다시 이 액 10 mL를 정취하여 메탄올로 정확히 50mL가 되게 하고 여과(0.45 μ m)하여 10 μ L 량을 HPLC 자동 주입기로 injection하였다.

GC/MS에 의한 천궁의 정유성분 분석

시료의 조제 : 천궁 100g을 증류수 400ml가 있는 용광플라스크에 넣고 정유정량장치를 이용해서 정유를 추출하였다. 추출물을 ether 50ml를 넣어 추출하고 40 $^{\circ}$ C이하로 해서 ether를 농축하여 GC/MS 분석용 시료로 사용하였다.

GC/MS조건 : 분석용기기는 GC 5890/ MSD HP5973를 column 은 DB-5MS (30m \times 0.254mm \times 0.25 μ m)을 주입구 온도는 200 $^{\circ}$ C, 검출질량은

Table 1. Analytical condition of decursinol angelate(1) and decursin(2)

Instrument	Waters HPLC
System	2690 separation module
Pump	2690 pump
Detector	996 photodiode array detector
Column	Nova Pak Silica
Mobile Phase	Hexane:EtOAc (9:1)
Detection	320nm
Flow rate(ml/min)	2
Column Temp.($^{\circ}$ C)	room

40-450 amu, 운반기체는 헬륨(1.0ml/min)의 유속으로 GC/MS분석하였다.

Salmonella typhimurium을 이용한 복귀돌연변이 시험

시험에 사용한 배지, 시약 및 S9mix의 조제와 시험방법은 Maron & Ames의 방법 (Ames et al., 1975; Maron and Ames, 1983) 에 따라 행하였으며 Salmonella typhimurium TA98 및 TA100은 Ames 교수로부터 직접 분양 받아 histidine 요구성, deep rough(fra) 특성, UV에 대한 민감도 (uvrB 돌연변이), R-factor에 의한 ampicilline 내성 등의 유전형질을 확인한 후 시험에 사용하였다 (Levin et al., 1982; Levin et al., 1984). S9은 Microbiological Associates(Bethesda, Maryland, U.S.A)에서 구입하였다. 시험은 대사활성화시키지 않은 경우(standard plate incorporation)와 대사활성화시키는 경우(preincubation test)로 나누어 시행하였다. 시험관에 인산완충액 0.5 mL(대사활성화시키는 경우에는 S9 mix 0.5 mL), 시료용액 0.1 mL을 넣어 가볍게 vortex하였다. 대사활성화시키는 경우에는 30분간 37 $^{\circ}$ C에서 예비 배양한 다음(대사활성화시키지 않은 경우에는 바로) histidine/biotin이 첨가된 top agar (45 $^{\circ}$ C)를 2 mL 가하고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate상에 부어 평판고화시켰다. 37 $^{\circ}$ C에서 48시간 배양한 후 revertant colony를 계수하였다. 돌연변이 유발성의 판정은 원저의 제시에 따라 복귀변이 집락수가 용매 대조군의 2배 이상이면서 용량의존성을 갖는 경우를 양성으로 하였다.

포유류 배양세포를 이용한 소핵시험

시험에 사용된 Chinese hamster ovary(CHO)

세포는 서울대학교 보건대학원 정해원교수로 부터 분양받았다. 배지는 10% fetal bovin serum, 100U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin, 5 × 10⁻⁵M 2-mercaptoethanol 및 20 mM HEPES buffer를 첨가시킨 McCoy's 5A 배지를 사용하였으며, 모두 GIBCO BRL, Inc.(U.S.A.)에서 구입하였다. 배양은 포화 상대습도 조건하에서 5% CO₂를 공급하는 37℃의 CO₂ Incubator에서 수행하였다. 시험방법은 CHO 세포 8 × 10⁴ 개를 Flaskette(19.8 × 51.8mm, Nunc)에 파종하여 2일간 배양한 후, 시험물질을 첨가하고 24시간 후에 세포 표본을 만들었다. Fenech and Morley의 cytokinesis-block(CB) method(Fenech et al., 1990)에 따라 cytochalasin B(Cyt-B; 3 µg/mL, Aldrich)를 시험물질과 함께 첨가하였다. 배양액을 suction out시킨 다음, 고정액(methanol: acetic acid, 3:1)으로 3회 고정시킨 후 공기건조법으로 세포표본을 만들었다. 3% Giemsa 염색액(pH 6.5)으로 15분간 염색하여 광학현미경으로 400배에서 관찰하였다. Cyt-B는 DMSO에 2 mg/mL로 녹여 -70℃에 보관하고, 사용하기 직전에 녹여 Hank's balanced salt solution으로 희석하여 사용하였다. 대사활성 존재하의 시험은 같은 방법으로 세포를 배양한 후, 시험물질과 S9 mix(배지의 20%비율)를 첨가하여 6시간 동안 배양한 다음, 신선한 배지로 교환하고 Cyt-B를 첨가하여 18시간 더 배양한 후 세포표본을 만들었다. 시험물질은 시료용매로 희석하였으며, 시료의 첨가량은 배양용량의 1/10을 넘지 않게 하였다. 음성대조군으로는 희석액인 시료용매를, 양성대조군으로는 직접법에서는 증류

수에 녹인 mytomycin C(Sigma)를 0.1µg/mL로 대사활성화법에서는 DMSO에 녹인 benzo(α)pyrene(Sigma)을 0.02 mg/mL로 첨가하였다. Micronuclei(MN)의 판독은 Almassy등(Almassy et al., 1987)의 기준에 따랐다. 1,000개의 binucleated CB세포들 중 MN을 갖는 세포를 계수하였다.

III. 결과 및 고찰

당귀의 유효성분 HPLC 정량

표준화된 한약재의 약리활성을 위한 기초연구로 당귀의 유효성분인 decursin과 decursinol angelate를 분리, 정제하여 HPLC로 97%의 순도를 확인하였고 1H-NMR, 13C-NMR 측정하여 그 구조를 동정하여 전보에 보고하였다(유 et al., 2000). 전보의 결과에 의하면 당귀의 유효성분인 decursinol angelate와 decursin은 normal phase column과 Hexane: EtOAc 용매계에서 머무름시간이 7.4분과 8.0분에서 각각 양호한 분리능을 보여주었다. 또한 당귀의 유효성분 정량결과 decursin의 함량이 4.23%, decursinol angelate가 2.65% 함유되어 있음을 확인하였으며 이는 중국당귀와 일본당귀에서 보이지 않으므로 그 감별의 구분을 명확히 찾을 수 있었다(Table 2).

Table 2. The content of active components of *Angelicae gigantis Radix*

	Sample(mg)	Content(mg)	Decursin(%) (n=2)	S.D.	C.V(%)
decursin	3002	129.71	4.32	0.008	0.09
decursinol angelate	3018	80.1	2.65	0.0007	0.01

천궁 정유성분의 GC/MS에 의한 정량

수증기 증류하여 얻은 정유를 GC/Mass에 의해 분석한 결과 3-isobutyldienphthalide, butylphthalide이 주성분임을 확인할 수 있었고 이는 중국천궁에서 얻은 주성분인 2-propenylphenoxyacetate, butylphthalide와 일본천궁의 정유 주성분인 cydopropane-1-ethenyl-2-hexenyl, 3-N-butylphthalide, 3-N-isobutylphthalide와 공통으로 phthalide계 물질을 파악할 수 있으나 pattern분석을 실시한 결과 차이점이 상이한 물질들도 분포하므로써 그 기원식물구명이 용이하였다(Fig. 1. Table 3).

궁귀탕과 구성단미의 돌연변이 억제활성

Ames test 에 의한 궁귀탕의 돌연변이억제물

측정한 결과 직접법에서 궁귀탕 물엑스 및 구성 단미 모두 유의적 활성을 보이지 않았으며, S9 mix를 이용한 대사활성법에서는 궁귀탕과 구성 생약인 당귀가 약한 활성을 나타내었다 (Table 4, 5).

궁귀탕과 구성단미의 소핵억제활성

궁귀탕에 의한 소핵생성억제를 측정한 결과 직접법에서 궁귀탕 물엑스가 58.6%정도의 활성을 나타내었으며 궁귀탕의 구성생약인 당귀가 53.8%정도의 활성을 보여 주었다. S9 mix를 이용한 간접법에서는 궁귀탕 구성 생약인 당귀가 약 52.5%정도의 활성을 보여 주었다(Fig. 2., Table 6, 7).

유효성분이 안정하고 기원이 명확한 한약제를 이용하는 것이 연구자나 임상가 모두에게

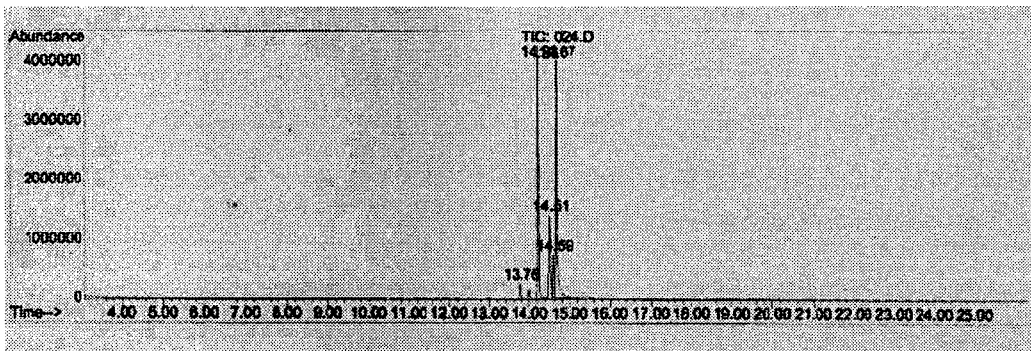


Fig. 1. TIC data *Cnidium officinale*(Rhizome, Korea)

Table 3. TIC data of Esstetial oils from the Rhizome of *Cnidium officinale* (Korea)

No.	Retention Time	Qual.	MW.	M. formula	Base peak	other main fragment	assignment
3	13.758	83	190	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	133	133,119,105,77,51	Butyl phthalide
4	14.226	80	150	C ₁₁ H ₁₈	79	135,121,107,93,79,41	(E,E)-1,3,5-Undecatriene
5	14.501	-	192	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	107	161,133,107,77,41	Allyl phenoxyacetate
6	14.593	89	188	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	108	137,108,79,41	3-Iso butyldienphthalide
	14.666	95	190	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	161	161,148,134,105,91,77,55,41	3-N-butyl phthalide

Table 4. Antimutagenic effect of water-soluble fractions from Gunggui-tang and its ingredient in the *S. typhimurium* reversion assay

Test material	Dose/plate	mutagen	S9 Mix	No. of colonies/ plate		Inhibition ratio (%)	
				TA98	mean		
H ₂ O			-	33	32	33	
GG ¹	3mg	NPD	-	226	200	213	NE
	6mg	NPD	-	212	210	211	NE
<i>A. gigas</i>	3mg	NPD	-	206	182	194	NE
	6mg	NPD	-	196	206	201	NE
<i>C. officinale</i>	3mg	NPD	-	195	198	197	NE
	6mg	NPD	-	209	223	216	NE
NPD	20mg	NPD	-	185	196	191	
H ₂ O			+	24	23	24	
GG ¹	3mg	B(α)P	+	220	225	223	NE
	6mg	B(α)P	+	210	205	208	NE
<i>A. gigas</i>	3mg	B(α)P	+	239	240	240	NE
	6mg	B(α)P	+	207	205	206	NE
<i>C. officinale</i>	3mg	B(α)P	+	215	225	220	NE
	6mg	B(α)P	+	230	235	233	NE
B(α)P	5mg	B(α)P	+	195	198	197	

NPD(4-nitro-o-phenylenediamine) and B(α)P(benzo(α)pyrene) were used as positive controls for the corresponding strains. 1Gunggui-tang

Table 5. Antimutagenic effect of water-soluble fractions from Gunggui-tang and its ingredient in the *S. typhimurium* reversion assay

Test material	Dose/plate	Mutagen	S9 Mix	No. of colonies/ plate		Inhibition ratio (%)	
				TA100	mean		
H ₂ O			-	157	157	157	
GG1	3mg	Na-Azide	-	613	655	634	15
	6mg	Na-Azide	-	771	673	722	NE
<i>A. gigas</i>	3mg	Na-Azide	-	630	674	652	11
	6mg	Na-Azide	-	692	675	684	NE
<i>C. officinale</i>	3mg	Na-Azide	-	645	668	657	10
	6mg	Na-Azide	-	727	749	738	NE
Na-Azide	1.5ug		-	720	710	715	
H ₂ O			+	143	147	145	
GG ¹	3mg	B(α)P	+	750	746	748	20

	6mg	B(α)P	+	730	720	725	23
A. <i>gigas</i>	3mg	B(α)P	+	680	695	688	28
	6mg	B(α)P	+	640	630	635	35
C. <i>officinale</i>	3mg	B(α)P	+	893	930	912	NE
	6mg	B(α)P	+	910	870	890	NE
B(α)P	5mg	B(α)P	+	848	958	903	

Na-Azide(sodium azide) and B(α)P(benzo(α)pyrene) were used as positive controls for the corresponding strains.
¹Gunggui-tang

중요한 요구사항으로 표준화에 관한 많은 연구들이 이루어져 왔다 (홍 et al., 1990, 이 et al., 1999, 육 et al., 2000, 2001). 본 연구에서는 실험에 사용한 당귀와 천궁을 HPLC와 GC/MS를 이

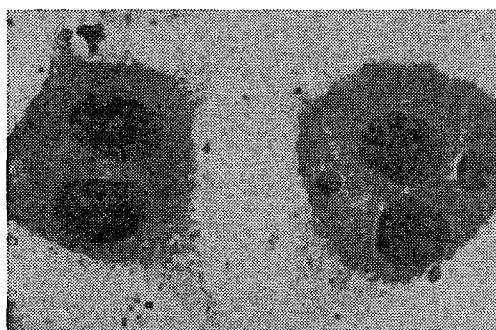


Fig. 2. A micronucleus (MN) formed during the metaphase/anaphase transition of mitosis (cell division).

용하여 유효성분을 분석하였으며 이를 이용하여 문헌적 고찰을 실시하여 일본, 중국의 당귀, 천궁과의 구분을 명확히 하였다. 그리고 표준화된 약재를 이용하여 구성된 궁귀탕으로 그 약리활성을 측정하였다. *S. typhimurium* 균주를 이용하여 합성 혹은 천연 돌연변이 유발물질 검색이 독성학적 측면에서 이루어졌으며, 이를 응용한 항돌연변이 활성 검색 또한 많은 연구가 이루어졌다(Sakai et al., 1986; Bala and Grover, 1989; Higashimoto et al., 1993; Kaur et al., 2001; Krul et al., 2001). 천연물을 이용한 항돌연변이에 관한 다수의 연구논문들이 발표되었으나 복합제재인 한약의 항돌연변이 활성에 관한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 이번 실험에서는 처방구성요소가 단순하고 생리활성이

Table 6. Antimutagenic effects of water-soluble fractions of Gunggui-tang in the micronucleus(MN) assay using cytokinesis-blocked CHO cells

Material	Conc (μ g/ml)	MMC ¹	Cells w/o MN	Cells with n MN				No. of MN	MN/1000 cells ² (Mean \pm S.D)	Inhibition ratio(%)
				1	2	3	4			
H ₂ O		-	2946	51	22	1	0	58	29.3 \pm 4.3	
GG ³	1000	+	1795	156	12	1	0	183	90.8 \pm 4.2	58.6
A. <i>gigas</i>	1000	+	1731	159	13	1	0	188	97.9 \pm 1.6	53.8
C. <i>officinale</i>	1000	+	1668	194	31	5	0	271	139.7 \pm 8.8	25.7
MMC ¹	6	+	1668	251	42	7	1	360	177.9 \pm 20.0	

¹Mitomycin C; ²Total number of cytokinesis-blocked(CB) binucleated cells with MN in the duplicated experiments which 1,000 binucleated cells were scored. ³Gunggui-tang

Table 7. Antimutagenic effects of water-soluble fractions of Gunggui-tang in the micronucleus(MN) assay using cytokinesis-blocked CHO cells

Material	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	S9	BP ¹	Cells W/o MN	Cells with n MN				No. of MN/1000 cells ² MN (Mean \pm S.D.)	Inhibition ratio(%)	
					1	2	3	4			
H ₂ O		-	-	2938	57	4	1	0	68	22.7 \pm 6.1	
GG ³	1000	+	+	1719	144	18	1	0	183	96.3 \pm 6.4	39.0
<i>A. gigas</i>	1000	+	+	1794	117	15	3	0	156	80.0 \pm 3.5	52.5
<i>C. officinale</i>	1000	+	+	1706	138	21	2	0	184	98.4 \pm 7.2	37.3
B(a)P1	5	-	+	1802	196	46	5	0	303	143.3 \pm 7.60	

¹ Benzo(α)pyrene; ² Total number of cytokinesis-blocked(CB) binucleated cells with MN in the duplicated experiments which 1,000 binucleated cells were scored. ³ Gunggui-tang

다양한 궁귀탕의 항돌연변이 활성을 *S. typhimurium* 을 이용한 reverse mutagenicity test 를 실시하였고, CHO(Chinese Hamster Ovary) 세포를 이용한 micronuclei test로 소핵을 검정하였다. 먼저 Ames test를 이용한 돌연변이 유발 억제활성은 직접법에서는 궁귀탕과 그 구성단미인 당귀, 천궁 모두 활성을 나타내지 않았으며, S9 효소를 첨가한 간접법도 유의적 활성을 관찰할 수 없었다. 소핵 유발 억제활성실험은 직접법에서 궁귀탕과 그 구성단미인 당귀에서 58.6%와 53.8%로 유의성 있는 활성을 관찰할 수 있었으며 S9 효소를 첨가한 간접법에서는 궁귀탕이 39.0% 당귀가 52.5% 천궁이 37.3%의 유의적 활성이 관찰되었다. 특히 당귀는 소핵유발 억제활성 실험에서 직접법, 간접법 모두 50%이상의 유의적 활성이 관찰되어 궁귀탕 활성의 중요한 약제로 생각된다. 이로서 한약의 기원식물 표준화의 일환으로 당귀와 천궁을 HPLC와 GC/MS로 분석하여 일본, 중국 약제와의 구분점을 명확히 하였고, 복합처방인 궁귀탕이 유의적인 항돌연변이 활성이 있음을 관찰하였다. 그리고 궁귀탕에서 항돌연변이 활성을 나타내는 유효성분을 찾아내기 위하여 궁귀탕을 분획하고 chromatography를 실시하여 활성

화합물 추적하고 있다.

참고 문헌

1. 유영범, 조성기(2000)감마선 조사 당귀 (*Angelica gigas* Nakai)의 유효성분 안정성 및 유전독성학적 안전성 연구. 한국식품영양과학회지, 29(2): 300-307.
2. 육창수, 강찬구, 장우현, 정남일, 인문교, 최영상(2000) 중국산 당귀, 천궁의 정유 성분 (2) 경희약대논문집, 28: 33-43.
3. 육창수, 황관균, 김호철, 백완숙(2001) 대조생약에 제조에 관한연구, 식품의약품안전청, 37-105.
4. 이항우, 박용기, 조현국 (1999)토천궁과 일천궁의 효능 및 품질비교에 관한 연구 (2) - 두 유형의 천궁과 천궁 - 당귀 배합시의 혈관 이완효능 -대한본초학회지(본초분과학회지), 14(1): 55-61.
5. 朱震亨 [原著]; 魯兆麟 主校(1999) 丹溪心法 沈陽: 遼寧科學技術出版社, 2-120
6. 허준 (1983) 동의보감(잡병편), 서울, 남산당,

7. 홍남두, 김남재, 류경수, 공영윤(1990) 당귀의 Coumarin 성분연구. Decursin 의 구조 이성체 Decursinol Angelate 의 분리 및 정량, 생약학회지 21(1): 64-68
8. Ahn KS, Sim WS, Kim IH (1996) Decursin: a cytotoxic agent and protein kinase C activator from the root of *Angelica gigas*. *Planta Med* 62:7-9.
9. Ahn KS, Sim WS, Lee IK, Seu YB, Kim IH (1997) Decursinol angelate: a cytotoxic and protein kinase C activating agent from the root of *Angelica gigas*. *Planta Med* 63:360-361.
10. Almasy Z, Krepinsky AB, Bianco A, Koteles GJ (1987) The present state and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. A review. *Int J Rad Appl Instrum [A]* 38:241-249.
11. Ames BN, McCann J, Yamasaki E (1975) Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat Res* 31:347-364.
12. Bala S, Grover IS (1989) Antimutagenicity of some citrus fruits in *Salmonella typhimurium*. *Mutat Res* 222:141-148.
13. Fenech M, Denham J, Francis W, Morley A (1990) Micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes of cancer patients following fractionated partial-body radiotherapy. *Int J Radiat Biol* 57:373-383.
14. Higashimoto M, Purintrapiban J, Kataoka K, Kinouchi T, Vinitketkumnuen U, Akimoto S, Matsumoto H, Ohnishi Y (1993) Mutagenicity and antimutagenicity of extracts of three spices and a medicinal plant in Thailand. *Mutat Res* 303:135-142.
15. Kaur S, Grover IS, Kumar S (2001) Antimutagenic potential of extracts isolated from *Terminalia arjuna*. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 20:9-14.
16. Krul C, Luiten-Schuite A, Tenfelde A, van Ommen B, Verhagen H, Havenaar R (2001) Antimutagenic activity of green tea and black tea extracts studied in a dynamic in vitro gastrointestinal model. *Mutat Res* 474:71-85.
17. Levin DE, Marnett LJ, Ames BN (1984) Spontaneous and mutagen-induced deletions: mechanistic studies in *Salmonella* tester strain TA102. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81:4457-4461.
18. Levin DE, Hollstein M, Christman MF, Schwieters EA, Ames BN (1982) A new *Salmonella* tester strain (TA102) with A X T base pairs at the site of mutation detects oxidative mutagens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79:7445-7449.
19. Maron DM, Ames BN (1983) Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 113:173-215.
20. Sakai Y, Nagase H, Ose Y, Sato T, Yamada A, Hibi M, Yamada F (1986) Antimutagenicity of extracts from crude drugs in Chinese medicines. *Mutat Res* 174:1-4.