

참당귀 Methanol 추출물의 생리활성

박경욱 · 최사라 · 홍혜란 · 김재용¹ · 손미예² · 서권일[†]

[†]순천대학교 식품영양학과, ¹경북대학교 식품공학과, ²경상대학교 식품영양학과

Biological Activities of Methanol Extract of *Angelica gigas* Nakai

Kyung-Wuk Park, Sa-Ra Choi, Hye-Ran Hong, Jae-Yong Kim¹,
Mi-Yae Shon² and Kwon-Il Seo[†]

Department of Food and Nutrition, Sunchon National University, Suncheon 540-742, Korea

¹Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 750-701, Korea

²Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Abstract

The biological activities of methanol extracts of *Angelica gigas* Nakai, such as antioxidation, anticancer and immuno-activity, were investigated in relation to development of functional foods. Anti-oxidation activity in the methanol extracts were assessed by hydrogen donating activity, reducing power and hydroxyl radical scavenging activity. Activities were dose-dependent over concentrations of 0.1, 0.5 and 1 mg/mL, with the hydrogen donating activity being over 50% at 1 mg/mL concentration. The methanol extracts inhibited the proliferation of SW480 cells in a dose-dependent manner, and chromatin condensation and apoptotic bodies were observed by fluorescence microscopy in the cells treated with the extracts for 24 hr. Caspase-3 activity was also increased in a dose-dependent manner in cells treated with the extracts relative to control cells. The extracts did not induce the proliferation of mouse spleen cells or NO production in macrophage cells (RAW 264.7). These results show that the methanol extract had slight anti-oxidative activity and did not increase immuno-activity, but inhibited proliferation of SW480 through apoptosis via a caspase dependent pathway.

Key words : *Angelica gigas* Nakai, antioxidation, cytotoxicity, apoptosis

서 론

참당귀는 산형과(미나리과)에 속하는 2~3년생 초본식물로서 굵고, 짧으며, 주근으로부터 줄기 및 잔기가 남아 있다. 주근의 길이는 3~7 cm이고 지름 2~5 cm이며, 가지 뿌리의 길이는 15~20 cm이며, 꽃피기전의 뿌리를 건조하여 약용으로 쓰고 특이한 방향성 냄새가 있으며 주근 및 뿌리에 있는 피목(皮目)은 정유가 스며 나와 흑색으로 되어 있고 생약전체는 점성이 있으며 맛은 약간 쓰다(1). 당귀(當歸)는 신농본초경(神農本草經)의 중품(中品)에 수재되어 있는 약재로서 한방에서 보혈강장, 조경지혈, 활혈정혈(活血精血) 및 어혈소산(瘀血消散)의 효능이 있어 빈혈치료와 혈액순

환 장애로 인한 어혈증과 혈전증 등 혈액순환 개선에 처방되는 중요한 생약이다(2-5). 함유성분으로는 coumarin계의 decursin, decursinol angelate 와 nodakentin, umbelliferon, β -sitosterol 등이 알려져 있다(6).

당귀는 한국, 일본, 중국 등지에서 약용을 목적으로 재배하여 왔으며, 그 산지에 따라 한국에서 생산되는 참당귀(*Angelica gigas* Nakai, 토당귀)와 일본에서 생산되는 일본당귀(*Angelica acutiloba* Kitagaw, 일당귀)와 중국에서 생산되는 중국당귀(*Angelica sinensis* Diels)로 구분하여, 그 성분과 약리적 효과는 상이한 것으로 알려져 있다(7).

당귀의 약리작용으로는 중국당귀를 중심으로 혈액 및 조혈계통에 대한 작용, 자궁에 대한 작용, 심혈관 계통에 대한작용, 면역계에 대한 작용, 진통작용, 소염작용, 항균작용, 간기능 보호작용, 항암작용 등이 보고 되었으며, 일당귀

[†]Corresponding author. E-mail : seoki@sunchon.ac.kr,
Phone : 82-61-750-3655, Fax : 82-61-750-3650

에서는 중추억제작용이 보고되었고(8), 최근 참당귀에서 혈관신생작용과 혈관이완효과에 대한 연구가 보고되었다(9).

당귀에 대한 국내 연구로는 당귀 및 산형과 식물 중 decursin 정량에 관한 연구(10), 당귀 품질 검사에 관한 연구(11), 당귀의 coumarin 성분연구(12), 재배지역에 따른 참당귀의 decursin 함량변이(13), 진부지역에서 생산된 당귀를 이용한 추출물 제조 및 이화학적 특성(14), 당귀 추출물이 생쥐 유래 대식세포의 일산화질소 생산에 미치는 영향(15), 당귀 추출물의 면역증가 효과(16) 등에 관한 연구가 보고되고 있으나, 대부분의 연구내용이 이화학적 성분연구에 대한 것이고, 생리활성 연구에 미흡한 실정이므로 여러 연구자들에 의하여 이에 대한 많은 연구가 진행되고 있다.

따라서 본 연구에서는 참당귀를 기능성 식품소재 및 의약품의 원료로 사용하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 당귀 methanol 추출물에 대한 항산화와 항암 효과 및 면역 활성화와 같은 기능성을 탐색하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

본 실험에 사용된 SRB(sulforhodamine B), TCA(trichloroacetic acid) 및 bis-benzimide(Hoechst 33258)은 Sigma(USA)사 제품을, Tris-HCl buffer는 Aldrich사 제품을 구입하여 실험에 사용하였다.

참당귀(*Angelica gigas Nakai*)는 2005년 6월 경상북도 영천에서 수확한 것을 순천 소재 한약 도매상을 통해 구입하여 당귀 건재뿌리 100 g을 분쇄한 후 methanol(v/v; 20times)로 80°C 3시간동안 추출을 3회 반복하여 가압 농축한 시료(7.0 g)를 실험에 사용하였다.

수소공여능

참당귀 methanol 추출물의 각 농도별에 대한 수소공여능 Blois 방법(17)에 대한 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazine(DPPH)의 환원성을 이용하여 517 nm에 UV/Vis-spectrophotometer로 측정하였다.

환원력 측정

시료들의 환원력은 Yildirim 등의 방법(18)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉 참당귀 methanol 추출물을 각 농도별로 1 mL에 2.5 mL의 인산완충용액(0.2 M, pH 6.6)와 2.5 mL의 potassium ferricyanide(1%, w/v)을 첨가하여 섞은 후, 50°C로 유지하면서 30분간 반응시켰다. 반응액에 2.5 mL의 trichloroacetic acid(10%, w/v)을 첨가하여 섞은 후 3000rpm으로 10분간 원심분리하였다. 상층액의 1 mL을 취해 시험관에 담고 1 mL의 증류수와 0.2 mL의 FeCl₃(0.1%,

w/v)을 첨가하여 흡광도 700 nm에서 환원력을 측정하였다.

Hydroxyl radical 소거능

Hydroxyl radical은 L-ascorbic-CuSO₄ 계에서 생성되고 cytochrome C의 산화에 의하여 spectrophotometer 520 nm에서 측정한다(19).

암세포증식 억제 효과

암세포 증식억제 효과는 한국 세포주 은행으로부터 분양 받은 SW480(colon cancer cells) 암세포주에 대하여 SRB 측정법으로 하였다(20). 즉, 세포배양은 RPMI 1640 배지로 만든 배양액에 각각 10% FBS(fetal bovine serum)가 첨가된 것으로 사용하였으며, 세포는 37°C, 5.5% CO₂ incubator에서 계대 배양하여 실험에 사용하였다. Monolayer로 자란 암세포주를 0.25% trypsin-EDTA 용액으로 처리하여 single cell로 만든 후 세포의 최종 농도가 1×10⁵ cell/mL 되도록 24 well plate 에 분주하고 37°C, 5.5% CO₂ incubator에서 24시간 배양 후 plate에 세포의 부착을 확인하고 참당귀의 methanol 추출물은 각각의 농도별로 RPMI 1640배지로 희석한 시료를 첨가하여 24시간 반응시킨 후 microplate reader(Titertek Multiscan Plus, Finland)로 540 nm에서 O.D 값을 측정하였다.

암세포의 형태학적 관찰

암세포를 각 well당 1×10⁵ 개씩 넣고 24시간 경과 후 60, 80 및 100 µg/mL 농도로 첨가하여 24시간 동안 배양 후 위상차 현미경(Diaphot 300, Nikon, Japan)을 이용하여 대조군과 시료처리군의 형태학적 변화를 비교 관찰 하였다.

Hoechst 염색을 통한 핵의 관찰

참당귀 methanol 추출물이 인체 암세포주의 사멸에 있어 apoptosis와 관련하는 지를 확인하기 위해 bis-benzimide (Hoechst 33258) 염색 후 핵의 형태변화를 관찰하였다(21). SW480 세포를 0.25% trypsin-EDTA 용액으로 처리하여 single cell로 만든 후 최종세포 농도가 5×10⁵ cell/mL 되도록 희석하여 6well plate에 분주한 다음 37°C, 5.5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 부착된 세포에 참당귀의 methanol 추출물을 농도별로 처리하고 24시간동안 반응시킨 후 염색물질인 hoechst 용액(5 µg/mL)으로 염색하고 형광현미경(BH2-BH2-RPL-T3, Olympus optical CO. Ltd., Japan)을 이용하여 핵의 형태변화를 정상군과 비교하였다.

Caspase-3 활성 측정

Apoptosis가 유발된 세포를 수집(2~5×10⁶)하여 cold cell lysis buffer 50 µL를 첨가 하고 얼음에 방치한다. 10분 후 원심분리(10000×g, 1 min)하여 상층액을 새로운 tube에 옮

겨 cold cell lysis buffer 50 μ L로 희석한다. 10 mM DTT가 첨가된 Reaction buffer 50 μ L을 첨가하고 5 μ L LEHD-pNA를 첨가하여 37°C에서 1~2 hr 방치한 후에 405 nm에서 흡광도를 측정하였다(22).

Spleen cell 분리

참당귀 추출물의 면역활성을 측정하기 위하여 B세포와 T세포같은 면역세포들이 많이 존재하고 하고 있는 비장세포를 이용하였다. 본 실험에서 사용된 생쥐(BALB/c, C57BL6)는 대한실험동물센터(충북 음성군)에서 구입한 생후 8~12 주된 암컷을 사용하였고, 실험 전까지 고형사료와 1차 증류수를 공급하면서 사육실에서 사육하였다. 먼저 생쥐(BALB/c, C57BL6)를 경추탈골로 희생시킨 뒤 70%알코올로 소독하여 올려놓고 오른쪽 옆구리 쪽을 절개하여 spleen을 떼어 낸 후 미리 준비해 둔 RPMI 1640배지가 들어 있는 petri dish에 spleen을 담고 핀셋을 이용하여 single세포로 만들고 4°C, 1200 rpm에서 6분간 3번 원심 침전하는 방법으로 세척하고 마지막에 10% FBS를 첨가 한 RPMI 1640배지로 희석하여 실험에 사용하였다.

면역세포증식 측정

분리한 비장세포는 5×10^6 cell/mL으로 희석한 다음 96well plate에 넣고 여기에 ConA 및 LPS를 첨가 또는 무첨가 후 식용사포닌을 농도별로 희석한 것을 넣고 48시간 5%, CO₂ incubator에 배양한 후 각 조건에 따른 증식정도를 측정하였다. 비장세포 증식측정은 cell titer 96[®] aqueous one solution cell proliferation assay를 사용하여 각각 배양된 배양액 100 μ L에 cell titer 15 μ L씩 첨가하여 4~8시간 동안 다시 5%, CO₂ incubator에 배양한 다음 490 nm에서 O.D.값을 측정하였다(23).

대식세포에서 NO 생성능 측정

안정된 NO산화물인 NO₂(nitrite)는 Griess반응을 이용하여 측정하였다(24). RAW 264.7(대식세포) 배양 상층액을 flat bottom 96well plate에 100 μ L씩 넣고 여기에 Griess시약(0.1% N-1-naphthyl-ethylendiamine in H₂O : 1% sulfanilamide in 5% H₃PO₄ = 1 : 1)을 동량 첨가하여 10분간 반응시킨 후, microplate reader (Titertek Multiscan Plus, Finland)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nitrite의 농도는 sodium, nitrite를 32 μ M까지 2배씩 희석하여 얻은 표준곡선과 비교하여 계산하였다.

결과 및 고찰

참당귀 추출물의 항산화 효과

Free radical로서 비교적 안정한 DPPH(1-diphenyl-2-picrylhy-

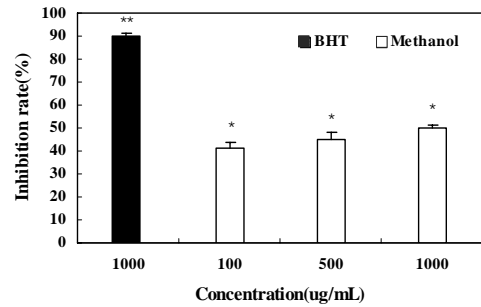


Fig. 1. Hydrogen donating activities of methanol extract from *Angelica gigas* Nakai.

Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with control at *p<0.05 and **p<0.01 by Student t-test.

drazyl)를 이용하여 당귀 methanol 추출물을 농도별로 수소공여능을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 참당귀의 methanol 추출물의 농도를 100, 500 및 1000 μ g/mL로 처리하였을 때 positive control로 사용된 BHT와 비교하여 낮은 활성을 나타내었으며, 최고농도인 1 mg/mL에서는 50% 정도의 DPPH free radical 소거 효과를 보였다. 이는 Lee 등(25)의 당귀로부터 분리한 coumarin계 decursinol angelate와 decursin에 대해 항산화 활성을 구명한 바와 같이 참당귀 methanol 추출물에는 decursinol angelate와 decursin 물질이 함유되어 활성을 나타냈을 것으로 생각된다.

참당귀의 methanol 추출물을 농도별로 처리하여 금속이온(Fe³⁺→Fe²⁺)을 환원시키는 환원력을 측정한 결과 환원력은 농도에 의존적으로 증가하였으나 positive control과 비교하였을 때 그 활성은 크게 나타나지 않았다(Fig. 2).

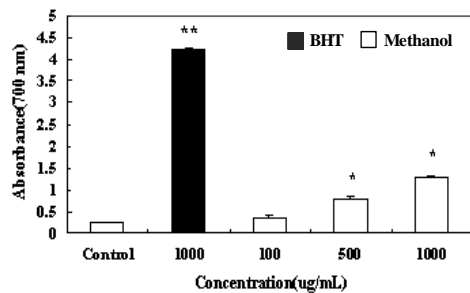


Fig. 2. Reducing power effects of methanol extracts from *Angelica gigas* Nakai.

Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with control at *p<0.05 and **p<0.01 by Student t-test.

또한 hydroxyl radical 활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같이 참당귀의 methanol 추출물의 농도가 증가함에 따라 hydroxyl radical 활성이 증가하는 경향을 보였으나, 합성 항산화제와 비교하여 낮은 활성을 보였다.

한편, Kang 등(26)의 연구에서는 참당귀의 열수 추출물의 DPPH free radical 소거 효과는 1 mg/mL의 농도에서 66.3±4.1(%)로 나타났고, methanol 추출물에서는 81.5±2.4

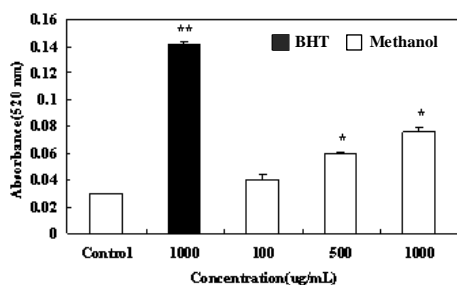


Fig. 3. Hydroxyl radical scavenging activities effects of methanol extracts from *Angelica gigas* Nakai.

Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with control at * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ by Student t-test.

(%)의 DPPH free radical 소거 효과를 보였다고 보고된 바 있으나 본 연구결과와 비교했을 때 참당귀의 methanol 추출물은 항산화 효능이 높지 않다는 것과 차이를 보이는 것으로 나타났다. 또한 Kim 등(27)의 hydroxyl radical 활성 연구에서는 1 mg/mL에서 $15.8 \pm 1.9\%$ 활성을 보였다고 보고된 바 있으나 본 연구결과에서는 $46.5 \pm 0.3\%$ 로 더 높은 활성이 나타났다.

따라서 상기의 결과를 종합하여 볼 때 당귀 methanol 추출물은 합성 항산화제인 0.1% BHT에 비하여 항산화 활성이 크지는 않았지만, 추출물이 처리되지 않은 대조군에 비하여 약간의 효과가 있음을 알 수가 있었다.

참당귀 추출물의 암세포 성장 억제 효과

참당귀 methanol 추출물을 colon cancer cell인 SW480 세포에 첨가농도 20, 40, 60, 80 및 100 µg/mL에 따라 24시간 동안 처리한 암세포주 성장 억제 효과를 측정된 결과는 Fig. 4 에 나타내고 있다. 참당귀의 methanol 농도가 증가할수록 SW480 세포의 성장을 억제시켰다. 특히, 80 µg/mL 농도에서 60% 이하의 성장 억제 효과를 보이는 것을 알 수 있었다. 또한 Yim 등(28)은 당귀로부터 분리한 decursin 을 인체 전립선암세포주인 DU145의 32.8 µg/mL 농도에 대한 활성은 33% 정도의 세포 사멸을 보였으나, 본 연구결

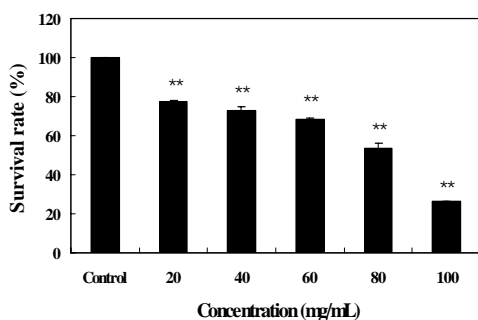


Fig. 4. Cell growth inhibition effects in the SW480 cells treated with methanol extracts from *Angelica gigas* Nakai for 24 hours by SRB assay.

Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with control at * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ by Student t-test.

과는 methanol 추출물의 40 µg/mL에서 26.8%의 세포 억제 효과를 보여 주는 것으로 보아, 참당귀의 methanol에 함유되어 있는 당귀의 표준물질인 decursin에 의한 암세포의 세포독성으로 보여진다.

참당귀의 methanol 추출물을 SW480 인체 대장암 세포에 60, 80 및 100 µg/mL 의 농도로 첨가한 후 24시간 동안 배양하여 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 5과 같다. 시료를 처리하지 않은 대조군은 세포증식에 있어 세포모양을 유지하며, plate의 기벽에 부착되어 세포모양을 유지하고 있으나, methanol 추출물 24시간 처리시 농도에 의존하여 핵의 응축과 더불어 세포가 배양용기에서 떨어져 배지에 부유하는 것을 관찰할 수 있었다.

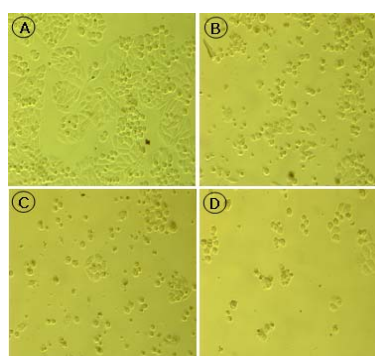


Fig. 5. Photomicrographs($\times 200$) of SW480 cells treated with methanol extracts from *Angelica gigas* Nakai for 24hours.

(a) : Control, (b) : Treated with methanol extract (60 µg/mL)
(c) : Treated with methanol extract (80 µg/mL),
(d) : Treated with methanol extract (100 µg/mL)

참당귀 methanol 추출물의 apoptosis 유도

참당귀의 methanol 추출물이 SW480세포의 사멸에 있어서 apoptosis를 유도하는지를 알아보기 위하여 SW480 세포에 농도별로 24시간 처리하여 hoechst 염색한 후 형광현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 6과 같다. 대조군이 균일한 핵의 형태를 보이는데 반하여 시료를 처리한 암세포의 경우는

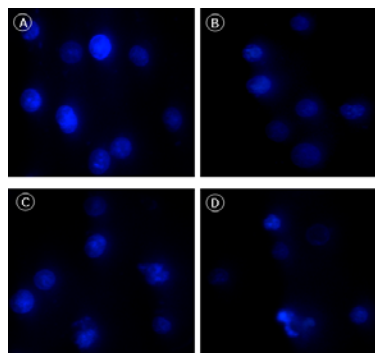


Fig. 6. Nuclear fragmentations induced by methanol extracts from *Angelica gigas* Nakai for 24 hours in the SW480 cells.

(a) Control, (b) Treated with methanol extract (60 µg/mL)
(c) Treated with methanol extract (80 µg/mL),
(d) Treated with methanol extract (100 µg/mL)

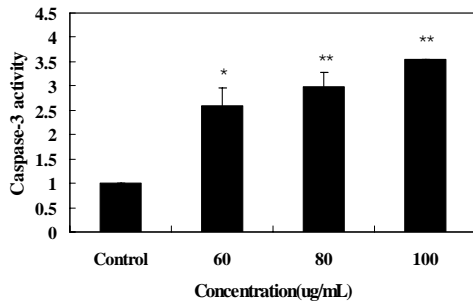


Fig. 7. Effects of the methanol extracts from *Angelica gigas* Nakai on caspase-3 activity.

Data values were expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with control at *p<0.05 and **p<0.01 by Student t-test.

농도가 증가할수록 핵이 응축되고, DNA 분절등과 같은 형태학적 관찰이 나타나 세포가 apoptosis에 의해 사멸되는 것으로 판단된다.

참당귀의 methanol 추출물에 대한 세포 사멸이 caspase와 관련하는지를 알아보기 위하여 참당귀의 methanol 추출물을 처리한 대장암 세포주에 대하여 caspase-3의 활성을 측정 한 결과, 참당귀의 methanol 추출물이 caspase-3의 활성을 대조군에 비하여 농도에 의존적으로 증가시켜 참당귀 methanol 추출물은 SW480 세포에 대하여 적어도 caspase dependent pathway 경로에 따라 apoptosis를 유도함을 알 수 있었다(Fig. 7).

참당귀 methanol 추출물의 면역활성

생쥐의 비장세포를 이용하여 면역세포의 증식효과를 측정 한 결과는 Fig. 8과 같다. 참당귀의 methanol 추출물 1 ug/mL의 농도까지는 대조군과 비교하여 상이한 차이를 보이지 않았으며 오히려 그 이상의 농도에서는 면역세포의 증식을 감소시키는 경향을 보였으며 이는 참당귀의 methanol 추출물의 농도가 10 ug/mL 이상에서는 세포에 대한 독성을 나타내었다. Con A 및 LPS의 혼합 첨가 시에도 비장세포에 참당귀 methanol 추출물을 단독 첨가한 처리구와 유사한 결과를 나타내었다.

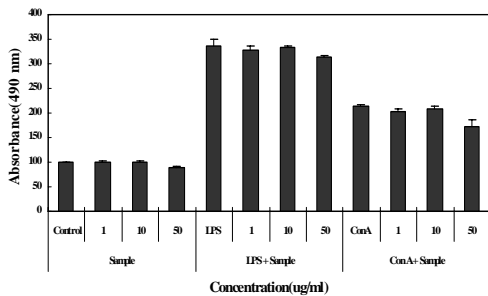


Fig. 8. Effects of methanol extracts from *Angelica gigas* Nakai on mouse spleen cell proliferation.

Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.

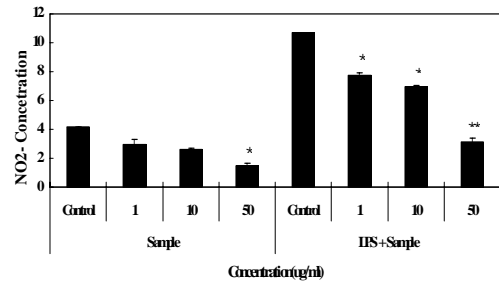


Fig. 9. Effects of methanol extracts from *Angelica gigas* Nakai on RAW 264.7 mouse macrophage cells proliferation.

Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with control at *p<0.05 and **p<0.01 by Student t-test.

면역세포인 RAW 264.7(대식세포)를 이용하여 세포에서 생성되는 NO 산화물인 NO₂(Nitrite)를 Griess 시약과 반응 발색시켜 대식세포의 증식정도를 나타낸 결과는 Fig. 9와 같다. 참당귀 methanol 추출물의 NO₂ 생성능은 대조군과 차이를 보이지 않았으며, 1 ug/mL 이상의 농도에서는 오히려 감소하는 경향을 나타내었다.

Park 등(29)의 연구에서 당귀의 물 추출물이 비장세포 증식에 효과가 없다고 보고하였으며, Lee (30)의 연구 결과 당귀의 메탄올 추출물이 비장세포 증식에 효과가 없었다고 하여, 본 연구결과와 같은 결과를 보여주었다.

따라서 상기의 결과를 종합하여 볼 때 참당귀의 methanol 추출물은 면역활성에는 크게 관련이 없을 것으로 생각된다.

요 약

참당귀(*Angelica gigas* Nakai)를 기능성 식품소재 및 의약품의 원료로 활용하기 위하여 참당귀 methanol 추출물에 대한 항산화, 항암 및 면역활성을 조사한 결과는 다음과 같다.

참당귀의 항산화력을 알아보기 위하여 0.1, 0.5 및 1 mg/mL의 농도로 당귀의 methanol 추출물을 처리한 후 수소공여능, 환원력 및 hydroxyl radical 활성을 측정하였다. 그 활성은 모두 추출물의 농도에 의존적으로 높게 나타났으며, 특히 수소공여능은 1 mg/mL에서 대조군과 비교했을 때 50% 정도의 활성을 나타내었다.

참당귀 methanol 추출물을 SW480세포에 처리한 결과 대조군에 비하여 농도 의존적으로 암세포의 성장을 억제하였으며, 암세포에 참당귀 methanol 추출물을 24시간 처리하여 hoechst 염색한 후 형광현미경으로 관찰한 결과 핵의 응축 및 DNA 분절이 관찰되었다. 또한 참당귀 methanol 추출물이 처리된 암세포에서는 대조군에 비하여 농도에 의존적으로 caspase-3의 활성이 증가하였다.

참당귀의 methanol 추출물은 생쥐의 비장으로부터 분리한 면역세포에 대하여 대조군과 비교하여 상이한 차이를 보이지 않았으며, 또한 대식세포인 RAW 264.7에서도 NO₂⁻ (Nitrite)를 함량이 증가되지 않았다.

따라서 이들 결과는 참당귀 methanol 추출물은 약한 항산화 활성을 가지며, 면역 활성화에는 큰 관련이 없지만, SW480 암 세포에서 caspase dependent pathway에 의한 apoptosis를 유도함으로써 암세포의 사멸하는 것으로 판단되어진다.

참고문헌

- Park, J.H., Lee, Y.J. and Keon, S.J. (2005) Pharmacognostical studies on the dang gui from Korea. Korean J. Pharmacogn., 36, 141-144
- Song, S.H., Seo, B.I., Kim, H.K. and Park, J.H. (2004) The effects of angelicae gigantis radix extract on hydrocortisone acetate induced model of blood stasis. Korean J. Herbology., 19, 13-21
- Yamada, H. (1992) Pharmacological and clinical effects of angelicae radix. 現代東洋醫學 Medical publication center Tokyo Japan., 13, 102-109
- Kano, Y. (1981) Physiological actions of angelicae and crude. 現代東洋醫學., 2, 43-48
- 陸昌洙 (1982) 漢藥의 藥理成分 臨床應用. p.738
- Ahn, K.S., Sim, W.S. and Kim, I.H. (1995) Decursin a cytotoxic agent and protein kinase c activator from the root of angelica gigas. Planta Med., 62, 7-9
- Lee, S.L. (1994) Phytology, Young Lim Publishing Co. Seoul, p.578-580
- Dakaki, K. (1982) Whahanyakmoolhak, Namsandang, Tokyo, Japan, p.293-297
- Oh, H.S. (2001) Comparative studies of the angiogenic activity of extract of angelica gigas, A. sinensis and A. acutiloba. Ph.D. dissertation, Kyunghee University, Seoul, Korea. p.34-35
- Kim, K.Y. (1990) Studies on the determination of decursin in angelica gigantis radix and some umbelliferae plants. M.S Thesis, Korea Kyunghee University. p.10-21
- Hwang, Y.S., Won, D.H., Yoon, T.B. and No, H.W. (1984) Studies on quality control method of crude drug preparations. Report of NIH Korea, p.341-348
- Ryu, K.S., Hong, N.D., Kim, N.J. and Kong, Y.Y. (1990) Studies on the coumarin constituents of the root of angelica gigas nakai isolation of decursinol angelate assay of decursinol angelate and decursin. Korea J. Pharmacogn., 21, 64-68
- Seong, N.S., Lee, S.W., Kim, K.S. and Lee, S.T. (1993) Environmental variation of decursin content in angelica gigas. Korean J. Crop Sci., 38, 60-65
- Lee, W.J., Yoon, J.R., Kim, E.K. and Ahn, K.T. (2000) Preparation and physicochemical properties of extracts from angelica gigantis radix of jin bu area. J. of East Coastal Research., 11, 13-22
- Yee, S.T., Jeong, Y.R., Ha, M.H., Byun, M.W. and Jo, S.K. (1998) Effect of angelica gigantis radix-water extract on nitric oxide synthesis in mouse macrophage. J. Life Resources & Industry., 3, 1-8
- Rho, T.C., Choi, H.C., Lee, S.W., Kim, Y.H., Rho, M.C., Kim, Y.K. and Lee, H.S. (2001) Inhibition of nitric oxide synthesis by coumarins from polygonum cuspidatum in lps-activated raw 264.7 cells. Korean J. Pharmacogn., 32, 181-188
- Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature., 181, 1199-1204
- Yildirim, A., Mavi, A. and Kara, A.A. (2001) Determination of antioxidant and anti microbial activities of rumex of aerobic life. Biochem. Symp., 61, 1-34
- Aruoma, O.I., Grootveld, M. and Halliwell, B. (1987) The role of iron in ascorbate-dependant deoxyribose degradation. Journal of Inorganic Biochemistry., 29, 289-299
- Moon, S.O., Lee, J.H. and Kim, T.J. (1998) Changes in the express of c-myc, RB and tyrosine-phosphorylated proteins during proliferation of NIH 3T3 cells induced by hyaluronic acid. Experimental and Molecular., 30, 29-33
- Ricote, M., García-Tuñón, I., Fraile, B., Fernández, C., Aller, P., Paniagua, R. and Royuela, M. (2006) P38 MAPK protects against TNF- α -provoked apoptosis in LNCaP prostatic cancer cells. An International Journal on Programmed Cell Death., 11, 1969-1975
- Kuo, P.L., Hsu Y.L., Chang C.H. and Lin C.C. (2005) The mechanism of ellipticine-induced apoptosis and cell cycle arrest in human breast MCF-7 cancer cells. Cancer Letters., 223, 293-301
- Promega Protocol. (2001) Cell titer 96⁺ aqueous one solution cell proliferation assay. Promega, USA
- Yee, S.T., Jeong, Y.R., Ha, M.H., Kim, S.H., Byun, M.W. and Jo, S.K. (2000) Induction of nitric oxide and TNF- α by herbal plant extract in mouse macrophage. Korean Soc Food Sci Nutr., 29, 342-348
- Lee, S.H., Lee, Y.S., Jung, S.H., Shin, K.H., Kim, B.K. and Kang, S.S. (2003) Antioxidant activities of decursinol

- angelate and decursin from angelica gigas roots. Nat. Prod. Sci., 9, 170-173
26. Kang, S.A., Han, J.A., Jang, K.H. and Choue R.W. (2004) DPPH radical scavenger activity and antioxidant effects of *cham-dang-gui* (*angelica gigas*). Korean J. Soc Food Sci Nutr., 33(7), 1112-1118
 27. Kim, E.Y., Baik, I.H., Kim, J.H., Kim, S.R. and Rhyu, M.R. (2004) Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. Korean J. Food SCI. Technol., 36, 333-338
 28. Yim, D., Singh, R.P., Agarwal, C., Lee, S., Chi, H. and Agarwal, R. (2005) A novel anticancer agents, decursin, induces G1 arrest and apoptosis in human prostate carcinoma cells. Cancer Res., 65, 1035-44
 29. Park, S.Y., Moon, E.Y., Zee, O.P, and Park, E.K. (1990) Immunomodulating activity of water extract from herbal Drug (I) - Immunosuppressing activity of water extract from *xanthii strumarium*. Korean J. Immunology., 12, 119-130.
 30. Lee, Y.S. (1999) Effect of methanol extract of wild plants on mouse spleenocytes proliferation. Korea Sookmyung University the Department of Food and Nutr., a master's thesis for a degree.
 31. Ko, K.S. and Kim, Y.S. (1991) An illustrated book of the korean flora. Academy Publishing Co, Korea., p.433-434
 32. Kang, Y.G., Lee, J.H., Chae, H.J., Kim, D.H., Lee, S.H. and Park, S.Y. (2003) HPLC analysis and extraction methods of decursin and decursinol angelate in angelica gigas root. Korean J. Pharmacogn., 34, 201-205
 33. Ryu, K.S., Hong, N.D., Kim, N.J. and Kong, Y.Y. (1990) Studies on the coumarin constituents of the root of angelica gigas nakai. Isolation of decursinol angelate and assay of decursinol angelate and decursin. Korean J. Pharmacogn., 21, 64-68
 34. Chi, H.J. and Kim, H.S. (1988) Studies on essential oil of plants of angelica genus in Korea (I) essential oils of angelica gigantis radix. Korean J. Pharmacogn., 19, 239-247
 35. Kim, H.S., Park, H.J. and Chi, H.J. (1980) A study of effects of the root components of angelica gigas nakai on voluntary activity in mice. Korean J. Pharmacogn., 11, 11-14
 36. Ahn, K.S., Sim, W.S. and Kim, I.H. (1996) A cytotoxic agent and protein kinase c activator from the root of angelica gigas. Planta Med., 62, 7-9
 37. Han, S.B., Kim, Y.H., Lee, C.W., Park, S.M., Lee, H.Y., Ahn, K.S., Kim, I.H. and Kim, H.M. (1998) Charateristic immunostimulation by angelan isolated from angelica gigas nakai. Immunopharmacol., 40, 39-48
 38. Salikhova, R.A. and Poroshenko, G.G. (1995) Antimutagenic properties of medicinal angelica (*angelica archangelica* L.) studied with the micronucleus tes. ross akad. Med. Nauk., 1, 58-61
 39. Kim, H.H., Ahn, K.S., Han, H., Choung, S.Y., Choi, S.Y. and Kim, I.H. (2005) Decursin and PDBu; two PKC activators distinctively acting in the megakaryocytic differentiation of K562 human erythroleukemia cells. Leukemia Research., 29, 1407-1413
 40. Kim, H.H., Bang, S.S., Choi, J.S., Han, H.G. and Kim, I.H. (2005) Involvement of PKC and ROS in the cytotoxic mechanism of anti-leukemic decursin and its derivatives and their structure-activity relationship in human K562 erythroleukemia and U937 myeloleukemia cells. Cancer Lett., 223, 191-201
 41. Hong, M.H. (1972) Statistical studies on the formularies of oriental medicine (I). prescription frequency and their origin distribution of herb drugs. Korean J. Pharmacogn., 3, 57-64

(접수 2007년 9월 5일, 채택 2007년 11월 16일)