

## The Radioprotective Effects of Rhizomata Herbs

Sung-ho Kim, Sung-kee Jo\* and Oh-deog Kwon\*\*

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University,  
Food Irradiation Team, KAERI,

\*\*College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University

### 대표적 근경류 생약의 방사선 방호효과

김성호 · 조성기\* · 권오덕\*\*

전남대학교 수의과대학, 한국 원자력연구소 방사선 식품공학팀\*, 전북대학교 수의과대학\*\*

(2000년 12월 15일 접수, 2001년 2월 27일 채택)

**Abstract** - We performed this study to determine the effect of Baizhu (*Atractylodes japonica*), Chuanxiong (*Cnidium officinale*), Shanyao (*Discorea japonica*) and Shengma (*Cimicifuga heracleifolia*), as Oriental rhizomata herbs, on jejunal crypt survival, endogenous spleen colony formation and apoptosis in jejunal crypt cells of mice irradiated with high and low dose of  $\gamma$ -radiation. Shengma was effective in intestinal crypt survival( $p < 0.05$ ). The frequency of radiation induced apoptosis was also reduced by pretreatment with Chuanxiong and Shengma( $p < 0.05$ ). Although the mechanisms of this effect remain to be elucidated, these results indicated that Shengma might be a useful radioprotector, especially since it is a relatively nontoxic natural product.

**Key words** : Baizhu (*Atractylodes japonica*), Chuanxiong (*Cnidium officinale*), Shanyao (*Discorea japonica*), Shengma (*Cimicifuga heracleifolia*), radiation

**요약** - 한의학에서 근경류(rhizomata)에 분류되어 있으며 각종 보약탕제에 주로 사용되는 대표적 생약인 백출(Baizhu, *Atractylodes japonica*), 천궁(Chuanxiong, *Cnidium officinale*), 산약(Shanyao, *Discorea japonica*) 및 승마(Shengma, *Cimicifuga heracleifolia*)의 방사선 방호효과를 확인하기 위해 고선량 및 저선량의 방사선을 마우스에 조사하고 소장암 생존, 내재성 비장집락형성 및 apoptosis 유발 등을 관찰하였다. 방사선조사전 승마 투여군에서 소장암세포의 생존율을 증가시켰으며 내재성 비장집락 형성 시험에서는 천궁 투여군에서 평균치의 증가가 관찰되었고 천궁 및 승마는 저선량 방사선에 의한 apoptosis 형성을 억제시켰다. 이상의 결과에서 승마 및 천궁의 방사선 방호효과를 조절세포의 생존과 회복, 소장암세포 생존을 통하여 확인하였으며 이는 독성이 적은 천연물이라는 관점에서 방사선 방호 식품으로서 적용이 가능할 것으로 사료된다.

**중심어** : 백출, 천궁, 산약, 승마, 방사선

### 서 론

현대의학의 발전에 따라 각종 의약품들이 개발되어 치료에 응용되고 있으나 아직도 다수의 질병치료에 한계가 있으며, 약물의 지속적인 사용에 따른 부작용도 나타나고 있다. 따라서 독성이 적은

면서 치료효과가 입증된 천연물에 의한 대체요법과 건강식품 개발의 필요성이 증가되고 있다. 천연물에 의한 처방은 동아시아와 일부 유럽에서 응용되고 있으며, 동양에서는 한의학의 처방에 따라 여러 종류의 생약을 혼합하여 열탕 추출 후 건조분말을 사용하기도 한다. 이러한 생약처방제는 여

러 종류의 급, 만성질환의 치료에 대한 효능은 일부 알려져 있으나 이들의 약리학적 작용기전 또는 성분이 명확히 밝혀져 있지 않으며, 실험적으로나 임상적으로 충분한 검증이 이루어지지 않았다.

방사선 및 방사성 동위원소의 의학적 이용증가 및 원자력 시설의 이용증대에 따라 방사선의 피폭 빈도가 증가하고 있어 방사선이 전신이나 국소장기에 노출되어 일어나는 장애에 대한 관심이 높아지고 있으며 방사선 피폭시 발생하는 생체손상의 예방 및 경감을 위한 방호제의 개발이 중요한 문제로 대두되고 있다 [1,2].

방사선 방호제에 대한 연구는 1949년 Patt 등 [3]에 의해 최초로 보고된 이래 주로 thiol 복합체 [4,5]를 중심으로 한 합성물질들이 연구의 대상이 되었으며 이외 interleukin-1 [6], tumor necrosis factor와 같은 면역제제 [7], granulocyte colony-stimulating factor 등의 조혈 증강제 [8]에 대한 연구가 진행되고 있다. 이러한 물질들은 유효용량에서 수반되는 강한 독성 또는 미미한 효과에도 불구하고 암의 방사선치료 분야 등에 적용을 목적으로 연구되고 있다 [9,10].

최근 천연물들에 의한 방사선생체반응변화 및 면역기능의 변화에 대한 연구가 관심의 대상이 되고 있으며, 이와 같은 관점에서 생약재의 방사선 방호효과도 다수의 연구가 진행되고 있다. 근경류 생약은 반 이상이 지하에 묻혀 있는 줄기, 즉 지하경(subterranean stem)을 약으로 쓰며 월년성이고 영양물을 저장하거나 번식을 목적으로 줄기가 변태된 것이므로 구조에 있어서도 피층부, 수부 및 기타 부위에 저장조직이 발달되어 있는 점이 지상경과의 차이이다. 저장물질로는 전분, 이눌린 등을 비롯하여 약으로 이용되는 여러 가지 화학성분들이 알려져 있다 [11].

본 연구에서는 한의학에서 근경류(rhizomata)에 분류되어 있으며 각종 보익탕제에 주로 사용되는 [12] 대표적 생약인 백출(Baizhu, *Atractylodes japonica*), 천궁(Chuanxiong, *Cnidium officinale*), 산약(Shanyao, *Discorea japonica*) 및 승마(Shengma, *Cimicifuga heracleifolia*)의 방사선 방호효과를 확인하기 위해서 고선량 및 저선량의 방사선을 마우스에 조사하고 소장염 생존, 내재성 비장집락형성 및 apoptosis 유발 등을 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 시료제조

시중에서 구입한 생약을 세절하여, 200g당 증류

수 2000ml의 비율로 혼합하고 80°C수조에서 8시간 증탕 추출한 뒤 고형분을 제거한 현탁액을 200g에서 10분간 원심분리시키고 상층액을 여과하여 감압농축하고 동결 건조시켰다.

### 방사선조사

실험용 방사선 조사기(Gamma-cell Elan 3000, Nordion International, Canada)를 사용하여  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 선(선량율: 10.9Gy/min)을 소장염 생존시험에는 12Gy, 내재성 비장집락측정시험에는 6.5Gy, apoptosis 측정시험에는 2Gy를 1회 전신 조사하였다.

### 소장염 생존시험

8주령의 자성 ICR 마우스를 실험군 당 6마리씩 정상대조군, 방사선 조사대조군과 시료병행 투여군으로 나누었으며 마우스 마리 당 1mg의 용량으로 방사선 조사 전 36 및 12시간 전에 복강내로 2회 주사하였다. 방사선조사 후 3.5일에 마우스를 희생시켜 소장부위를 채취하고 각 마우스당 8~10개의 소장편을 통상적인 방법에 따라 파라핀 포매하고 절편을 제작하여 각 마우스당 8개의 종질된 소장표본의 가장자리에 위치하는 소장염의 수를 광학현미경으로 측정하였다.

### 내재성 비장집락 형성시험

8주령의 음성 ICR 마우스를 실험군 당 9마리로 방사선 조사대조군과 시료병행 투여군으로 구분하였다. 마우스 마리당 1mg의 용량으로 방사선 조사 전 36시간과 12시간에 2회 복강내로 주사하였다. 방사선조사 후 9일에 각 실험군의 마우스를 희생시켜 비장을 채취하여 Bouin 고정액에 2일간 고정하고 표면에 형성된 조혈집락을 실체현미경으로 관찰하였다.

### Apoptosis 측정

8주령 자성 ICR 마우스를 실험군 당 4마리씩 정상대조군, 방사선 조사 대조군과 방사선조사 전 복강내 투여군으로 나누었다. 방사선조사 후 6시간에 마우스를 희생시켜 소장을 채취하고 Carnoy's 고정액에 고정하고 각 마우스당 8~10개의 소장편을 통상적인 방법에 따라 파라핀 포매하고 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색 및 DNA fragments 측정을 위하여 *in situ* apoptosis detection kit (APOPTAG TM, Oncor, Gaithersburg, MD, U. S. A.)를 사용한 *in situ* DNA end-labeling (ISEL)을 실시하였다. ISEL technique는 표본슬라

이드에 terminal deoxynucleotidyl transferase를 첨가하여 fragmented DNA에 digoxigenin-nucleotides를 부착시키고 anti-digoxigenin-peroxidase antibody를 면역염색법으로 결합시킨 후 diaminobenzidine(Sigma chemical Co.)를 사용하는 통상적인 방법으로 peroxidase enzyme 부위를 발색하였다. 마우스 마리당 40개의 소장염을 광학현미경으로 관찰하였으며, 측정에 사용된 소장염은 염의 편측세포수가 17개 이상으로 Paneth cell과 내장이 확연히 나타나는 정확히 종질된 염만을 선택하여, 소장염의 Paneth cell을 제외한 4번째 세포까지를 기저부 (base)로 하고, apoptotic cell을 기저부와 전체 소장염에서 관찰되는 총수로 구분하여 산출하였다. 여러 개의 apoptotic body가 그 크기와 형태를 고려할 때, 한 세포의 잔유물로 나타날 때는 한 개의 세포로 측정하였다.

## 결 과

### 소장염 생존시험

정상대조군의 공장단면 주변부의 염수는 평균 157개 이었으며, 방사선 단독 조사군에서는 평균 20개로 급격히 감소하였다. 방사선 조사 전 승마 ( $p < 0.05$ ) 투여군에서 생존 소장염의 수가 통계적 유의성있게 증가되었으며 기타 약제투여군에서도 평균치의 증가는 관찰되었으나 심한 개체차에 따라 유의성은 없었다(표 1).

### 내재성 비장집락형성 시험

내재성 비장집락 형성은 방사선 조사대조군에 비하여 방사선 조사전 천궁 복강내 투여군에서 평

Table 1. Effect of herbs on intestinal crypt survival in irradiated mice(Mean±SD).

Groups	Crypts per circumference
Untreated control	157 ± 14.81
Irradiation control (12Gy)	19.65 ± 6.09
Baizhu + irradiation	31.52 ± 7.97
Chuanxiong + irradiation	38.42 ± 19.81
Shanyao + irradiation	32.73 ± 13.80
Shengma + irradiation	40.96 ± 4.96*

Water extract of herbs (1mg/animal) were given i.p. at 36 and 12 hours before irradiation.

\* $p < 0.05$  as compared with irradiation control group.

Table 2. Effect of herbs on endogenous spleen colonies of irradiated mice at ninth day after irradiation (Mean±SD)

Groups	Number of colony
Irradiation control (6.5Gy)	2.11 ± 1.69
Baizhu + irradiation	4.38 ± 6.94
Chuanxiong + irradiation	12.38 ± 15.73
Shanyao + irradiation	1.78 ± 2.73
Shengma + irradiation	4.78 ± 5.24

Water extract of herbs (1mg/animal) were given i.p. at 36 and 12 hours before irradiation.

균 5.9배 증가하였으나 통계처리 유의성은 없었으며 산약의 경우 감소하였다(표 2).

### Apoptosis 측정

apoptotic cell은 염의 기저부에 주로 형성되었으며 H&E 염색상에서 핵염색질과 세포질의농축 및 산호성 세포질의 특성을 나타내었으며, ISEL 염색에서 양성의 세포 및 apoptotic body가 관찰되었다. 정상대조군에서 염당 0.091개가 관찰되었으며 방사선 단독조사군에 비하여 천궁 및 승마 병행투여군에서 유의성 있는 감소를 나타냈다(표 3).

## 고 찰

본 실험에서는 백출, 천궁, 산약 및 승마의 방사선 방호효과를 확인하기 위해서 고선량 및 저선량의 방사선을 마우스에 조사하고 소장염 생존, 내재성 비장집락형성 및 apoptosis 유발 등을 관찰하였다.

방사선 증감제 및 방호제는 암치료를 위한 방사선 및 화학요법시 함께 적용될 경우 큰 효과를 얻을 수 있을 것이라는 관점에서 주요 연구대상이 되어왔다. Washburn 등 [13]과 Cairnie [14]는 thiol 기가 포함된 WR2721같은 화합물이 가장 강력한 방호효과가 있다고 보고하였으나 이러한 합성물질들의 대부분은 방사선 조사 후나 경구 투여시 효과가 경미하거나 거의 없기 때문에 조사직전에 주사하여야 하며 또한 정상세포에도 심한 독성을 나타내는 단점을 가지고 있어 실제 적용에는 많은 한계가 있다.

생약과 같은 천연물들은 각종 질병이나 상해회복에 효과적이며, 독성이 적어서 특별한 부작용을 나타내지 않는다. 따라서 방사선장해를 예방 또는

Table 3. Effect of herbs on incidence of cell death by apoptosis in crypt of intestine following irradiation (Mean±SD)

Groups	Apoptotic cell per crypt	
	Base	Total
Untreated control	0.071 ± 0.036	0.091 ± 0.032
Irradiation control (2Gy)	4.688 ± 1.138	4.938 ± 1.194
Baizhu + irradiation	4.189 ± 1.905	4.224 ± 3.285
Chuanxiong + irradiation	2.519 ± 0.335*	2.856 ± 0.478*
Shanyao + irradiation	3.294 ± 1.852	3.763 ± 1.090
Shengma + irradiation	2.388 ± 0.449**	2.619 ± 0.452*

Water extract of herbs (1mg/animal) were given i.p. at 36 and 12 hours before irradiation.

\*p<0.05, \*\*p<0.01 as compared with irradiation control group.

경감시키는 효과를 가진 천연물에 대한 연구도 관심의 대상이 되고 있다. 생약제제에 의한 방사선 방호효과는 조혈조직의 보호 및 회복 [15~17], 면역증강 [18~20], 약재성분 중 미량원소의 흡수 [21] 등의 관점에서 연구가 진행되고 있으며, 조혈장기의 장해극복효과에 관한 연구가 주를 이룬다. 단일생약제에 대한 연구에서는 인삼 [22]을 비롯하여 당귀 [23], 천궁 [24], 영지 [25], 가시오가피 [16], 만삼 [18], 자리공 [19], 황기 [26], 및 지황 [15] 등의 효과가 보고되었으며 탕제를 비롯한 복합처방제에 대한 연구는 사물탕 및 사군자탕 [27], 보중익기탕, 소시호탕, 십전대보탕 [28], 인삼영양탕 [29], 귀비탕 [20,30] 및 육미지황 [21] 등의 효과 유무가 단편적으로 보고되고 있다.

백출은 삼주의 주피를 제거한 뿌리줄기이며 rotavirus에 의한 장염에서 항바이러스효과 [31], 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate 유발 염증에 대한 항염작용 [32], 염산과 알콜로 유도된 위 점막손상에 대한 항궤양효과 [33], 이뇨작용 [34], 돌연변이 억제작용 [35]이 있는 것으로 보고되었으며 한방에서는 주로 건위소화, 지사정장, 이뇨, 진정 및 진통약으로 사용된다 [11]. 천궁은 뿌리줄기를 그대로 또는 썬서 사용하며, 허혈 [36], 발암물질에 의한 대식세포의 기능 장애에 효과 [37]가 있고, x 선에 의해 유발된 치사 및 피부손상에 대한 방호작용 [24], tumor necrosis factor 산생으로 항암효과 [38]가 알려져 있으며 한방에서는 보혈, 강장, 진정 및 진통의 목적으로 사용된다 [11]. 산약은 참마 또는 마의 뿌리줄기의 주피를 제거하고 그대로 또는 썬서 사용하며, 골다공증의 예방

[39], 노화방지의 작용이 보고 [40] 되었고 한방에서는 자양강장, 진해 및 지사의 목적에 적용되었다 [11]. 승마는 승마 또는 기타 동속 식물의 뿌리 줄기이며, 항염, 진통, 해열효과가 있고 [41] influenza virus 감염 후 interleukin-8의 분비를 억제 [42]하며 한방에서는 발한, 해열 및 해독약으로 사용된다 [11].

본 연구에서 고선량, 중간 선량 및 저선량 방사선을 조사한 실험법을 적용하여 효과를 관찰한 바 방사선조사전 승마 투여군에서 소장염세포의 생존율을 증가시켰으며 내재성 비장집락 형성 시험에서는 천궁 투여군에서 평균치의 증가가 관찰되었고 천궁 및 승마는 저선량 방사선에 의한 apoptosis 형성을 억제시켰다. 이상의 결과에서 승마 및 천궁의 방사선 방호효과를 조혈세포의 생존과 회복, 소장염세포 생존을 통하여 확인하였으며 이는 독성이 적은 천연물이라는 관점에서 방사선 방호 식품으로서 적용이 가능할 것으로 사료된다.

### 감사의 글

이 논문은 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행된 연구결과물의 일부이며, 이에 감사드립니다.

### 참고 문헌

1. IAEA safety series No. 47, "Manual on Early Medical Treatment of Possible Radiation Injury." IAEA, Vienna, 74(1978).
2. NCP report No. 65, "Management of Persons

- Accidentally Contaminated with Radionuclides.*" 77(1980).
3. H. Patt, M. Tyree and R.L. Straube, "Cystein protects against x-irradiation." *Science*, 110, 213-214(1949).
  4. L. Milas, N. Hunter, B.O. Reid and Jr.H.D. Thames, "Protective effects of S-2-(3-aminopropylamino) ethylphosphorothioic acid against radiation damage of normal tissues and a fibrosarcoma in mice." *Cancer Res.*, 42, 1888-1987(1982).
  5. L. Milas, D. Murray, W.A. Brock and R.E. Meyn, "Radioprotectors in tumor radiotherapy: Factors and settings determining therapeutic ratio." *Pharmacol. Ther.*, 39, 179-189(1988).
  6. R. Neta, S. Douches and J.J. Oppenheim, "Interleukin 1 is a radioprotector." *J. Immunol.*, 136, 2483-2485(1986).
  7. R. Neta, "Role of cytokines in radioprotection." *Pharmacol. Ther.*, 39, 261-266(1988).
  8. T.J. MacVittie, R.L. Monroy, M.L. Patchen and L.M. Souza, "Therapeutic use of recombinant human G-CSF (rhG-CSF) in a canine model of sublethal and lethal whole body irradiation." *Int. J. Radiat. Biol.*, 57, 723-736(1990).
  9. T.R. Sweeney, "A survey of compounds from the antiradiation drug development program of the U.S. army medical research & development command." Walter Reed Army Institute of Research. Washington, DC. (1979).
  10. M.M. Kligerman, M.T. Shaw, M. Slavid and J.M. Yudas, "Phase I clinical studies with WR2721." *Cancer Clin. Trials*, 3, 217-221 (1980).
  11. 한대석, "생약학", 동명사(1995).
  12. 한약위원회, 조제지침연구소위원회, "한약조제 지침서 해설", 사단법인 대한약사회(1995).
  13. L.C. Washburn, J.E. Carlton and R.L. Hayes, "Distribution of WR-2721 in normal and malignant tissue of mice and rats bearing solid tumors: dependence on tumor type, drug dose and species." *Radiat. Res.*, 59, 483-575(1974).
  14. A.B. Cairnie, "Adverse effect of radioprotector WR2721." *Radiat. Res.*, 94, 221-226(1983).
  15. Y. Yuan, S. Hou, T. Lian and Y. Han, "Studies of *Rehmannia glutinosa* Libosch. f. *hueichingensis* as a blood tonic." *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, 17, 366-368(1992).
  16. T. Miyanomae and E. Frindel, "Radioprotection of hemopoiesis conferred by *Acanthopanax senticosus* Harms (Shigoka) administered before or after irradiation." *Exp. Hematol.*, 16, 801-806(1988).
  17. Y. Wang and B. Zhu, "The effect of angelica polysaccharide on proliferation and differentiation of hematopoietic progenitor cell." *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih*, 76, 363-366(1996).
  18. X.L. Zneg, X.A. Li and B.Y. Zhang, "Immunological and hematopoietic effect of *Codonopsis pilosula* on cancer patients during radiotherapy." *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 12, 607-608 (1992).
  19. H.B. Wang, Q.Y. Zheng, D.W. Ju and J. Fang, "Effects of *Phytolacca acinosa* polysaccharides II on lymphocyte proliferation and colony stimulating factor production from mice splenocytes *in vitro*." *Yao Hsueh Hsueh Pao*, 28, 490-493(1993).
  20. H.Y. Hsu, D.M. Hau and C.C. Lin, "Effects of kuei-pi-tang on cellular immunocompetence of gamma-irradiated mice." *Am. J. Chin. Med.*, 21, 151-158(1993).
  21. G. Lu, M. Yang, Y. Shen and J. Meng, "The absorption of Fe, Zn, Cu in siwu, sijunzi, and Liuwei dihuang decoction by small intestine in rats." *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, 16, 297-298(1991).
  22. S.H. Kim, C.K. Cho, S.Y. Yoo, K.H. Koh, H.G. Yun and T.H. Kim, "In vivo radioprotective activity of Panax ginseng and diethyldithiocarbamate." *IN VIVO*, 7, 467-470(1993).
  23. Q.B. Mei, T.Y. Tao and B. Cui, "Advances in the pharmacological studies of *radix Angelica sinensis* (Oliv) Diels (Chinese Danggui)." *Chin. Med. J. Engl.*, 104, 776-781(1991).
  24. S. Ohta, N. Sakurai, Y. Sato, T. Inoue and M. Shinoda, "Studies on chemical protectors

- against radiation. XXX. Radioprotective substances of *cnidii rhizoma*." *Yakugaku Zasshi*, 110, 746-754(1990).
25. H.Y. Hsu, S.L. Lian and C.C. Lin, "Radioprotective effect of *Ganoderma lucidum* (Leys. ex. Fr.) Karst after X-ray irradiation in mice." *Am. J. Chin. Med.*, 18, 61-69(1990).
  26. N.Q. Li, "Clinical and experimental study on shen-qi injection with chemotherapy in the treatment of malignant tumor of digestive tract." *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 12, 588-592(1992).
  27. S.E. Lee, H. Oh, J.A. Yang, S.K. Jo, M.W. Byun, S.T. Yee and S.H. Kim, "Radioprotective effects of two traditional Chinese medicine prescriptions: Si-Wu-Tang and Si-Jun-Zi-Tang." *Am. J. Chin. Med.*, 27, 387-396(1999).
  28. Y. Hosokawa, "Radioprotective effect of Chinese medicinal prescriptions in mice." *J. Med. Pharm. Soc. for Wakan-Yaku*, 3, 164-169(1986).
  29. H.Y. Hsu, Y.H. Ho, S.L. Lian and C.C. Lin, "Preliminary study on the anti-radiation effect of jen-sheng-yang-yung-tang." *Am. J. Chin. Med.*, 21, 187-195(1993).
  30. H.Y. Hsu, Y.H. Ho, S.L. Lian and C.C. Lin, "Preliminary study on antiradiation effect of kwei-pi-tang." *Am. J. Chin. Med.*, 19, 275-284(1991).
  31. S.T. He, F.Z. He and C.R. Wu, "Clinical and experimental study on treatment of rotavirus enteritis with qiwei baizhu powder." *Chung. Kuo. Chung. Hsi. I. Chieh. Ho. Tsa. Chin.*, 16, 132-135(1996).
  32. K. Yasukawa, S.Y. Yu, S. Kakinuma and M. Takido, "Inhibitory effect of rikkunshi-to, a traditional Chinese herbal prescription, on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mouse skin." *Biol. Pharm. Bull.*, 18, 730-733(1995).
  33. H. Matsuda, Y.H. Li, K. Tanguchi, J. Yamahara and Y. Tamai, "Imaging analysis of antiulcer action and the active constituent of *Atractylodes rhizoma*." *Yakugaku Zasshi*, 111, 36-39(1991).
  34. K. Satoh, I. Yasuda, F. Nagai, K. Ushiyama, K. Akiyama and I. Kano, "The effect of crude drugs using diuretic on horse kidney ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ )-adenosine triphosphatase." *Yakugaku Zasshi*, 111, 138-145(1991).
  35. Y. Sakai, H. Nagase, Y. Ose, T. Sato, M. Kawai and M. Mizuno, "Effects of medicinal plant extracts from Chinese herbal medicines on the mutagenic activity of benzo(a)pyrene." *Mutat. Res.*, 206, 327-334(1988).
  36. K.J. Chen and K. Chen, "Ischemic stroke treated with *Ligusticum chuanxiong*." *Chin. Med. J. Engl.*, 105, 870-873(1992).
  37. R. Jin and S. Kurashige, "Effects of Chinese herbs on macrophage functions in N-butyl-N-butanolnitrosoamine treated mice." *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 18, 105-114(1996).
  38. K. Haranaka, N. Satomi, A. Sakurai, R. Haranaka, N. Okada and M. Kobayashi, "Antitumor activities and tumor necrosis factor producibility of traditional Chinese medicines and crude drugs." *Cancer Immunol. Immunother.*, 20, 1-5(1985).
  39. L. Shen, J.Y. Du and J.Y. Yang, "Preliminary clinical study on prevention of bone loss in postmenopausal women with kidney invigoration." *Chung. Kuo. Chung. Hsi. I. Chieh. Ho. Tsa. Chin.*, 14, 515-518(1994).
  40. X.P. Li, "Experimental study on anti-senility of the 4 famous Chinese herbs produced in Huaiqing area." *Chung. Hsi. I. Chieh. Ho. Tsa. Chin.*, 11, 486-487(1991).
  41. N. Sakurai and M. Nagai, "Chemical constituents of original plants of *Cimicifugae rhizoma* in Chinese Medicine." *Yakugaku Zasshi*, 116, 850-865(1996).
  42. T. Hirabayashi, H. Ochiai, S. Sakai, K. Nakajima and K. Terasawa, "Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on murine interleukin-8 production in response to influenza virus infections *in vitro* and *in vivo*." *Planta Med.*, 61, 221-226(1995).