국내 소비 주요 생약재의 유기용매 추출물에 대한 유전독성평가

*윤 원 호

서일대학교 식품생명과학과

Genotoxicological Safety Evaluation of the Solvent Extracts for Medicinal Herbs that are of Highly Domestic Spendings

*Won Ho Yoon

Dept. of Food Science & Biotechnology, Seoil University, Seoul 131-702, Korea

Abstract

This study is carried out to evaluate the genotoxicity of herbs (*Angelica decursiva*, *Polypori umbellate*, *Astragalus membranaceua*, *Paeonia iactiflora*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Cnidium officinale*, *Rehmannia glutinosa*, *Cyperus rotundus*, *Dioscorea batatas* and *Platycodi Radix*) by using the Ames test. The *Salmonella typhimurium* reversion assay is being performed by using the *Sal. typhimurium* TA98, TA100, TA102, TA1535 and TA1537 as tester strains. Among 70% of ethanol extracts from 10 herbs, the number of revertant colonies is being increased in *Astragalus membranaceua*, *Cnidium officinale* and *Dioscorea batatas* in a dose-dependent manner, as compared with negative controls of the metabolic activation. In case of dichloromethane and ethyl acetate fraction from 70% of ethanol extracts, the number of revertant colonies is increased in *Angelica decursiva*, *Astragalus membranaceua*, *Cnidium officinale*, *Rehmannia glutinosa* and *Dioscorea batatas* in a dose-dependent manner, as compared with negative controls of metabolic activation. Such results indicate that *Angelica decursiva*, *Astragalus membranaceua*, *Cnidium officinale*, *Rehmannia glutinosa* and *Dioscorea batatas* all show genotoxic effects when being extracted with the solvent extractions such as 70% of ethanol, dichloromethane and ethyl acetate, and thus, they might be genotoxically- non-safe.

Key words: medical-herbs, genotoxicological safety, Ames test

서 론

세계 각국에서는 천연물을 이용한 신약 개발 연구에 오랜 시간을 투자해 왔다. 천연물 유래의 신약으로는 *Taxus brevifolia*의 taxol을 제품화한 paclitaxel, *Camptotheca acuminata*의 camptothecin을 이용한 topotecan 및 irinotecan 등이 있다. 1982년 이후 승인, 등록된 신약후보물질은 총 868종인데, 이중 천연물신약은 심혈관계 치료제 6종, 항암제 9종, 면역관련 치료제 9종, 대사성 질환 치료제 3종, 항균제 9종 등 40종에 이른다(Newman & Cragg 2007; Dias 등 2012). 이 만큼 천연물로부터의 의약품 개발은 주요한 재료가 되고 있으며, 국내에서도 천연물을 이용한 천연물 신약, 기능성 식품 및 화장품 소재 개발에 많은

연구 개발이 이루어지고 있다. 이중에서 최근 2009년 및 2010년도 보건복지부에서 실시한 한약소비실태조사의 결과 보고에 의하면 당귀, 복령, 황기, 작약, 감초, 천궁, 숙지황, 향부자, 산약 및 길경이 가장 많은 구입 실적을 나타내어 사용 빈도가 높은 것으로 알려져 있으며, 한방제제에도 여러 질환에 이용되는 것으로 알려져 있다(Kilani & Ben 2005; Joo 등 2005; Bang 등 2008; Jin 등 2009; Kim 등 2010; Kim 등 2011; Lee 등 2011; Weon 등 2011).

국내에서는 생약 원료를 이용하여 기능성식품소재에 대한 연구가 많이 보고되어 왔고, 이러한 결과를 이용하여 천연물 의약품 및 개별인정형 기능성 식품소재 및 식품의 개발에 대한 연구개발이 많이 진행되고 있다. 일반적으로 천연물의약

* Corresponding author: Won Ho Yoon, Dept. of Food Science and Biotechnology, Seoil University, Seoul 131-702, Korea. Tel: +82-2-490-7458, Fax: +82-2-490-7811, E-mail: whyoon@seoil.ac.kr

품 중에서는 신약과 자료제출의약품으로 나눌 수 있다. 신약 처의 의약품의 임상시험 수행과 품목허가를 위한 비임상시험 가이드라인을 보면 의약품 허가를 위한 비임상자료 제출의 경우에 신약은 단회, 반복, 유전 등의 다수의 독성을 검사하여야 하는 반면, 자료제출의약품의 경우는 원료의 추출조건에 따라서 항목이 달라진다. 특히 생약원료의 주정 이외의 유기용매의 경우는 단회, 반복 및 안전성 약리검사를 하여야 하며, 유전독성검사 자료가 필요하다. 일반적으로 한약제제의 경우는 정제수로 추출하나, 이러한 한약제제 원료에 대하여 정제수에서는 추출되지 않는 많은 유용한 성분을 찾아내기 위하여 주정 이외의 많은 유기용매를 사용하여 추출하는 것이 일반적이다.

본 연구에서는 당귀, 복령, 황기, 작약, 감초, 천궁, 숙지황, 향부자, 산약 및 길경을 유기용매를 이용하여 추출되는 생약 원료에 대하여 복귀돌연변이 유전독성 검사법을 이용하여 각종 유기용매로 추출하여 이들 추출물에 대한 유전독성검사를 실시하였다. 이러한 자료는 향후 생약 원료를 이용한 기능성 식품 소재, 화장품 소재 및 천연물의약품 개발에 있어서 보다 체계적이고 안전성을 위한 독성자료의 데이터 베이스 구축에 이바지 할 뿐만 아니라, 이들 원료를 이용하는 소비자 및 산업체의 이용성에 중요한 정보 구축 자료라 판단된다.

재료 및 방법

1. 실험재료

시험에 사용된 생약 원료는 서울 경동약재시장에서 구입하였다. 구입한 약재는 2009년 및 2010년도 한약소비실태조사의 조사대상품목 33개의 품목 중에서 상위 10위 생약원료로 정하였으며, 그 원산지는 중국산으로 하였다. 그 원료로는 당귀, 복령, 황기, 작약, 감초, 천궁, 숙지황, 향부자, 산약 및 길경으로 하였다. 각각의 재료들은 정제수로 수세한 다음 실 내에서 건조한 후 세절 및 분쇄한 뒤 냉동 보존하면서 실험에 사용하였다.

2. 추출

실험에 사용된 재료들은 300 g에 70% ethanol를 중량의 4배인 1.2 ℓ를 첨가한 후, 상온에서 12시간씩 3회 반복 추출하여 농축한 다음, 농축액을 물에 녹여 dichloromethane과 ethylacetate을 이용하여 각각 분획하여 복귀돌연변이 시료로 사용하였다. 복귀돌연변이시험용 시료는 DMSO에 녹여 사용하였다.

3. 복귀돌연변이시험

복귀돌연변이시험의 준비과정은 Maron과 Ames의 방법에 따라 실시하였다(Maron & Ames 1983). 복귀돌연변이 시험 균

주로는 G-C(guanine-cytosine)염기쌍에 base change형인 *Salmonella typhimurium* TA100과 TA1535, frameshift형인 *Sal. typhimurium* TA98과 TA1537 및 A-T(adenine-thymine) 염기쌍에 돌연변이 균주인 *Sal. typhimurium* TA102을 사용하였다. 시험은 대사활성화를 시키지 않은 경우와 대사활성화를 시키는 경우로 나누어 실시하였는데, 대사활성화를 위한 간균질액(S9 mix)은 Molecular Toxicology, INC.(Boone, NC, USA)로부터 구입하여 10%(v/v)의 S9 mix를 제조하여 사용하였다. 시험물질의 처리는 유전독성 감도가 비교적 높은 preincubation법으로 수행하였다(Mortelmans 2000). 시험물질 0.1 ml와 인산완충용액(대사활성화시키는 경우에는 S9 mix) 0.5 ml에 균주를 nutrient broth에서 대수기(약 2×10^9 cells/ml)에 이르도록 하룻밤 배양한 배양액 0.1 ml를 넣고 37°C에서 30분간 전배양하였다. 이것을 histidine/biotin을 함유한 top agar 2 ml에 혼합하여 minimal glucose agar에 부어 굳힌 다음, 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 집락수를 계수하였다.

4. 결과 판정

시험결과는 각 농도군 당 3 plates로부터 얻은 집락수의 평균과 표준편차(mean±S.D.)로 나타내었다. 돌연변이 유발성은 대사활성계 존재 유, 무에 관계없이 복귀변이 집락수가 음성대조군의 2배 이상이면서 최소 1개 군주에서 용량의존성을 갖는 경우(유의수준 $P < 0.05$ 로 *t*-test 실시)를 양성으로 판정하였다(Ryu 등, 2008).

결과 및 고찰

당귀, 복령, 황기, 작약, 감초, 천궁, 숙지황, 향부자, 산약 및 길경의 70% ethanol, dichloromethane 및 ethyl acetate 추출물에 대하여, *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 102, TA1535 및 TA 1537을 사용하여 Ames test로 각 시료의 돌연변이원성을 측정하였다. 각각의 시험균주 *Sal. typhimurium* TA 98, TA 1537, TA 100, TA1535 및 TA 102에서의 음성대조군의 복귀돌연변이 집락수는 다음과 같았다. S9 mix를 첨가하는 않은 경우, 각각 42 ± 5 , 19 ± 4 , 177 ± 16 , 20 ± 3 및 237 ± 14 이었고, S9 mix를 첨가한 경우는 각각 30 ± 4 , 20 ± 3 , 173 ± 15 , 15 ± 3 및 221 ± 15 으로 나타났다. 집락수가 음성대조군의 2배 이상이면서 최소 1개 군주에서 용량의존성을 갖는 경우 돌연변이원성으로 판단하였다. 이러한 기준으로 생약원료에 대한 70% ethanol 추출물에서 돌연변이원성이 나타난 생약원료는 황기, 천궁 및 산약이었다.

황기는 TA 98 균주(S9 +)에서 추출물 처리농도 1.25 mg/plate, 2.5 mg/plate, 5 mg/plate 및 10 mg/plate에서 각각 43 ± 3 , 69 ± 8 , 128 ± 12 및 428 ± 23 으로 농도 의존적이었고, 집락수가 음성대

조군의 2배 이상인 농도는 2.5 mg/plate 이상이었다. TA 100 균주(S9 +)에서는 동일 농도에서 각각 171 ± 13 , 197 ± 18 , 377 ± 29 및 597 ± 34 로 농도 의존적이었으며, 음성 대조군 대비 2배 이상의 집락수를 기록한 농도는 5 mg/plate 이상이었다. 한편, TA 102 균주(S9 +)에서는 시험 농도에서 농도 의존적인 집락수의 증가를 보였으나, 집락수가 음성 대조군의 2배 이상의 집락수는 나타나지 않았다. S9이 첨가되지 않은 경우에서는 모든 시료에서 돌연변이원성이 인정되지 않았다(Table 1).

천궁의 경우, 역시 S9이 첨가된 경우에 돌연변이원성이 나타났다(Table 1). 사용한 시험 균주 모두에서 처리 농도에서 농도 의존적으로 증가된 집락수를 나타내었고, TA 102을 제외한 나머지 균주에서 음성 대조군 대비 2배 이상 집락수를 나타내어 돌연변이원성이 인정되었다.

산약은 TA 100, TA 1535 및 TA 102에서 처리 농도에서 농도 의존적으로 증가된 집락수를 나타내었고, TA 1535에서 처리 농도 5 mg/plate 이상에서 음성 대조군 대비 2배 이상의 집락수를 나타내어 돌연변이원성이 인정되었다. 그 밖의 나머지 생약원료에서는 70% ethanol 추출에 의하여 돌연변이원성이 나타나지 않는 것으로 판단되었다.

Table 2는 70% ethanol 추출물을 dichloromethane으로 분획한 추출물에 대하여 돌연변이원성을 측정한 결과이다. Dichloromethane 추출물에서는 당귀, 황기, 천궁, 숙지황 및 산약에서 돌연변이원성이 나타나, 70% ethanol 추출물에서는 나타나지 않았던 당귀와 숙지황에서 돌연변이원성이 추가되었다. 당귀, 황기 및 천궁의 경우, 시험 균주 모두에서 한 개 이상의 농도에서 음성 대조군 대비 2배 이상의 집락수를 나타내었다. 숙지황에서는 TA 100, TA 1535 및 TA 102에서 농도 의존적으로 증가된 집락수를 보였고, TA 100 및 TA 1535에서는 처리 농도 모든 구간에서 음성 대조군 대비 2배 이상의 집락수가 나타나 돌연변이원성이 인정되었다.

Table 3은 70% ethanol 추출물을 ethyl acetate로 분획한 추출물에 대하여 돌연변이원성을 측정한 결과이다. Ethyl acetate 추출물의 경우, 역시 dichloromethane 추출물의 결과와 유사한 돌연변이원성이 나타났다. 즉, 시험에 사용한 생약원료 중에서 당귀, 황기, 천궁, 숙지황 및 산약에서 돌연변이원성이 나타났다. 또한 70% ethanol 추출물에서는 나타나지 않았던 당귀와 숙지황에서 돌연변이원성이 나타났다. 당귀, 황기 및 천궁의 경우, 시험 균주 TA 102을 제외하고 나머지에서 한 개 이상의 농도에서 음성 대조군 대비 2배 이상의 집락수를 나타내었다. 숙지황과 산약의 경우, TA 100, TA 1535 및 TA 102에서 농도 의존적으로 증가된 집락수를 보였고, TA 1535에 대해서는 음성 대조군 대비 2배 이상의 집락수가 나타나 돌연변이원성이 인정되었다.

시험에 사용한 10가지 생약원료의 경우, 여러 가지의 한방

처방에 많이 이용되는 생약으로 일반적으로 탕제 제법으로는 돌연변이원성이 인정되지 않는 원료로 알려져 있으나, 본 시험에서 70% 이상의 ethanol에 대하여 돌연변이원성을 측정한 결과, S9 mix가 첨가되지 않는 경우는 모든 생약원료에서 돌연변이원성이 인정되지 않았으나, S9 mix가 첨가된 경우에 황기, 천궁 및 산약에서 최소 1개 이상의 균주에서 돌연변이원성이 나타났다. 또한 위 생약원료의 경우, 추가적으로 dichloromethane 및 ethyl acetate로 각각 추출을 한 경우에 그 돌연변이원성의 정도(집락수의 증가)가 증가되었고, 70% ethanol 추출물에서는 나타나지 않았던 돌연변이원성이 당귀와 숙지황에서 관찰이 되어 dichloromethane과 ethyl acetate와 같은 유기용매에 관련 성분들이 이행되는 것으로 사료된다. 공통적으로 시험에 사용된 추출물 모두 S9 mix 첨가 시에 돌연변이가 나타나는 것으로 보아 모두 간접돌연변이성 성분이 추출되는 것으로 사료된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 국내에 유통되는 생약 원료에 대하여 유기용매 추출 시에 돌연변이원성이 나타나는 지에 대한 조사를 실시하였다. 추출방법으로는 70% ethanol로 10가지 생약원료를 모두 추출하여 돌연변이원성을 Ames test를 이용하여 측정하였고, 또한 70% ethanol 추출물로부터 dichloromethane 및 ethyl acetate를 이용하여 각각 추출한 분획에 대해서도 조사를 실시한 결과, 70% ethanol에서는 S9 mix가 첨가된 경우, 황기, 천궁 및 산약에서 돌연변이원성이 나타났고, 70% ethanol 추출물로부터 dichloromethane 및 ethyl acetate로 분획한 것에서는 당귀, 황기, 천궁, 숙지황 및 산약에서 돌연변이원성이 나타났다. 위의 모든 생약의 경우, S9 mix가 첨가되지 않은 경우는 돌연변이원성이 나타나지 않았고, S9 mix가 첨가한 경우에만 돌연변이원성이 나타나는 것으로 보아, 간접돌연변이원이 본 시험에서 사용한 유기용매에서 용출되는 것으로 사료된다.

References

- Bang SH, Han SS, Cho JH, Lee YW, Cho CK, Yoo HS. 2008. Study about herb-drug interaction for cancer patients. *Korean J Orient Int Med* 29:887-903
- Dias DA, Urban S, Roessner U. 2012. A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites* 2:303-336
- Jin YJ, Sung JS, Kim DG. 2009. The protective effects of *Dioscorea rhizoma* on the exposure to UVA of MEF cells. *J Orient Obstet Gynecol* 22:36-50

Table 1. Revertant colonies in *Salmonella typhimurium* treated with 70% ethanol extract

	S9 mix	Conc. (mg/plate)	No. of revertant per plate				
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	TA102
<i>Angelica decursiva</i>	—	1.25	40±5	17±6	170±12	20±4	230±15
	—	2.5	42±4	16±5	175±10	22±4	236±21
	—	5	42±7	18±3	176±11	25±4	246±19
	—	10	41±6	18±5	179±13	26±3	234±18
	+	1.25	43±3	17±5	172±13	21±4	233±15
	+	2.5	40±6	18±4	177±18	21±6	236±19
	+	5	59±6	19±3	178±11	22±5	245±18
	+	10	71±3	21±5	209±19	27±4	250±21
<i>Polypori umbellata</i>	—	1.25	44±5	22±6	170±11	20±4	231±15
	—	2.5	37±5	20±3	173±10	22±4	235±21
	—	5	31±7	19±3	175±11	25±4	244±12
	—	10	41±6	15±5	171±12	26±3	235±16
	+	1.25	42±5	17±5	172±13	28±4	233±14
	+	2.5	39±5	19±4	177±18	25±6	233±19
	+	5	32±2	21±3	161±11	22±2	246±18
	+	10	21±4	21±3	114±19	21±3	256±21
<i>Astragalus membranaceus</i>	—	1.25	41±2	17±2	169±12	22±4	248±25
	—	2.5	44±4	17±5	170±10	22±4	239±29
	—	5	50±5	19±3	221±21	23±4	274±39
	—	10	77±5	18±5	269±33	25±3	289±34
	+	1.25	43±3	15±5	171±13	22±4	279±28
	+	2.5	69±8	18±3	197±18	28±6	293±24
	+	5	128±12	19±4	377±29	29±5	345±32
	+	10	428±23	28±3	597±34	47±5	368±24
<i>Paeonia lactiflora</i>	—	1.25	46±5	15±6	186±12	22±4	218±35
	—	2.5	44±4	16±5	181±12	23±4	226±23
	—	5	43±7	21±3	179±13	26±4	228±33
	—	10	41±5	19±5	178±12	29±6	221±28
	+	1.25	43±3	18±4	178±18	33±5	203±13
	+	2.5	44±6	19±5	179±21	32±9	211±22
	+	5	46±6	19±3	188±21	33±9	225±19
	+	10	44±3	21±3	189±28	37±9	216±32
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	—	1.25	51±11	20±6	138±22	20±5	270±35
	—	2.5	52±4	21±5	140±20	22±7	277±31
	—	5	54±11	25±3	145±31	25±4	266±33
	—	10	51±6	23±5	159±23	26±2	239±41
	+	1.25	55±9	27±5	149±33	25±4	253±25
	+	2.5	50±7	28±4	156±38	25±6	255±39
	+	5	59±9	21±3	150±21	25±5	249±32
	+	10	51±11	25±5	160±39	29±4	258±29
<i>Cnidium officinale</i>	—	1.25	39±5	20±6	219±32	20±5	239±11
	—	2.5	45±4	22±5	223±30	22±3	236±26
	—	5	52±9	24±3	331±41	26±5	256±22
	—	10	56±8	29±3	339±55	28±6	289±27

Table 1. Continued

	S9 mix	Conc. (mg/plate)	No. of revertant per plate				
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	TA102
<i>Cnidium officinale</i>	+	1.25	144±26	36±9	329±63	29±5	294±34
	+	2.5	155±33	78±21	394±56	39±9	346±42
	+	5	497±43	149±53	587±66	59±11	382±51
	+	10	897±51	369±59	1008±61	109±31	419±59
<i>Rehmannia glutinosa</i>	—	1.25	39±5	20±6	177±22	25±4	242±29
	—	2.5	41±4	19±5	185±13	26±4	246±31
	—	5	45±8	18±5	179±13	25±5	249±21
	—	10	47±7	19±5	199±25	29±6	244±32
	+	1.25	49±8	17±5	179±13	31±4	237±23
	+	2.5	50±9	16±4	207±33	31±6	245±24
	+	5	59±7	19±5	493±46	33±9	264±34
	+	10	61±5	22±6	943±52	34±8	279±30
<i>Cyperus rotundus</i>	—	1.25	32±5	19±6	164±34	14±4	213±34
	—	2.5	34±5	15±3	166±36	19±5	211±29
	—	5	36±8	21±5	167±30	20±4	215±22
	—	10	30±5	20±6	163±25	16±5	218±23
	+	1.25	33±5	21±5	179±24	20±5	224±32
	+	2.5	30±6	22±4	177±21	25±7	226±26
	+	5	35±5	26±5	179±30	23±6	225±14
	+	10	34±6	24±6	185±25	28±4	227±30
<i>Dioscorea batatas</i>	—	1.25	44±8	22±7	178±36	15±4	237±33
	—	2.5	43±7	23±6	179±31	16±4	239±31
	—	5	45±9	25±9	195±36	19±8	256±34
	—	10	52±7	27±8	216±44	19±5	267±28
	+	1.25	39±4	19±5	170±23	17±5	301±44
	+	2.5	44±7	24±9	184±26	29±3	318±45
	+	5	46±7	30±8	327±25	46±9	337±34
	+	10	55±9	33±7	339±29	87±10	378±48
<i>Platicodon grandiflorum</i>	—	1.25	35±5	17±5	164±22	25±5	230±13
	—	2.5	34±6	16±9	165±16	26±4	235±16
	—	5	39±5	18±4	174±15	27±5	244±18
	—	10	35±4	18±6	175±16	26±2	245±20
	+	1.25	35±6	22±5	175±11	23±4	232±18
	+	2.5	37±6	24±5	178±20	25±8	235±11
	+	5	39±4	29±5	184±25	23±5	239±14
	+	10	41±3	28±6	183±15	27±5	241±16
Negative control ¹⁾	—		42±5	19±4	177±16	20±3	237±14
	+		30±4	20±3	173±15	15±3	221±15
Positive control ²⁾	—		2,320±34	1,734±77	945±46	1,227±75	2,098±42
	+		2,094±49	1,797±88	914±37	1,169±80	2,169±53

¹⁾ Negative control: DMSO²⁾ Positive control: S9(—); TA98: 2-nitrofluorene 1 µg/plate, TA100: Sodium azide (NaN₃) 1.5 µg/plate, TA102: Mitomycin C (MMC) 1 µg/plate, TA1535: Sodium azide (NaN₃) 1 µg/plate, TA1537: ICR 191 acridine 1 µg/plate; S9(+) all tester strains 2-aminoanthracene 2 µg/plate (mean±S.D., n=3).

Table 2. Revertant colonies in *Salmonella typhimurium* treated with dichloromethane extract

	S9 mix	Conc. (mg/plate)	No. of revertant per plate				
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	TA102
<i>Angelica decursiva</i>	—	1.25	42±7	18±6	175±18	21±4	229±15
	—	2.5	43±4	17±3	176±13	22±6	231±21
	—	5	45±5	19±2	172±19	28±6	239±19
	—	10	44±6	18±6	178±14	31±5	234±19
	+	1.25	124±57	21±6	203±45	46±8	288±16
	+	2.5	169±37	28±5	246±31	66±7	362±28
	+	5	288±33	47±8	361±25	84±12	437±46
	+	10	501±39	75±12	413±47	102±11	659±51
<i>Polypori umbellata</i>	—	1.25	41±5	18±6	172±11	24±4	233±15
	—	2.5	43±4	17±5	173±16	26±5	241±16
	—	5	46±6	18±3	173±14	28±6	244±19
	—	10	41±6	18±3	179±13	27±5	241±17
	+	1.25	44±4	17±5	170±12	23±6	234±14
	+	2.5	42±5	19±4	175±19	24±9	235±20
	+	5	44±9	21±6	177±13	25±6	237±16
	+	10	45±5	22±5	179±16	28±5	242±23
<i>Astragalus membranaceus</i>	—	1.25	47±9	21±8	173±22	21±4	221±12
	—	2.5	46±8	22±6	174±26	23±4	222±23
	—	5	49±6	23±9	189±24	26±4	229±17
	—	10	55±5	26±8	195±30	29±3	231±17
	+	1.25	478±48	67±12	320±48	34±5	235±25
	+	2.5	549±39	89±13	456±53	39±8	369±49
	+	5	732±48	138±23	631±56	47±9	527±39
	+	10	1,621±56	426±36	702±23	62±7	657±41
<i>Paeonia lactiflora</i>	—	1.25	43±7	19±6	180±26	22±4	235±25
	—	2.5	45±5	18±6	182±25	23±4	236±22
	—	5	46±8	19±8	183±24	25±5	234±20
	—	10	46±9	19±6	186±20	26±6	235±22
	+	1.25	36±8	20±5	174±13	19±4	214±11
	+	2.5	34±5	21±4	179±18	20±6	215±16
	+	5	38±9	22±3	179±11	23±5	218±13
	+	10	39±8	23±6	180±20	29±5	230±26
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	—	1.25	43±6	18±6	173±16	22±4	231±24
	—	2.5	45±6	16±9	174±12	22±4	235±29
	—	5	46±8	19±3	175±16	25±4	238±21
	—	10	47±5	20±5	178±16	28±3	238±19
	+	1.25	40±5	22±3	173±13	16±4	240±16
	+	2.5	42±6	25±4	175±16	18±6	239±20
	+	5	40±9	22±3	178±12	16±5	240±18
	+	10	41±4	26±5	177±13	17±3	241±23
<i>Cnidium officinale</i>	—	1.25	36±5	18±6	164±13	23±4	239±15
	—	2.5	37±3	21±4	167±19	25±4	246±23
	—	5	41±8	32±6	170±12	29±4	249±20
	—	10	54±3	34±3	175±15	30±4	254±23

Table 2. Continued

	S9 mix	Conc. (mg/plate)	No. of revertant per plate				
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	TA102
<i>Cnidium officinale</i>	+	1.25	77±10	63±8	197±15	33±6	337±36
	+	2.5	113±15	125±19	307±32	46±7	394±22
	+	5	308±31	498±41	523±39	86±10	428±34
	+	10	506±39	928±39	669±52	119±21	461±32
<i>Rehmannia glutinosa</i>	—	1.25	41±2	18±6	166±19	22±4	233±13
	—	2.5	43±4	19±5	163±14	23±4	235±22
	—	5	48±6	20±2	175±13	25±5	243±14
	—	10	45±9	18±5	187±15	27±5	239±15
	+	1.25	41±6	19±3	468±29	34±6	259±22
	+	2.5	52±7	26±4	567±36	49±8	286±32
	+	5	49±2	30±5	667±36	85±3	327±29
	+	10	48±8	34±6	934±42	98±6	386±36
<i>Cyperus rotundus</i>	—	1.25	41±4	18±6	174±13	20±5	233±16
	—	2.5	42±3	17±5	175±12	22±3	237±26
	—	5	43±9	19±3	174±19	25±4	233±19
	—	10	44±5	19±5	176±14	26±5	235±14
	+	1.25	36±5	22±4	180±21	22±4	229±13
	+	2.5	38±9	23±5	177±18	22±6	230±20
	+	5	39±5	25±6	179±13	22±5	236±17
	+	10	37±5	27±9	177±18	28±3	240±20
<i>Dioscorea batatas</i>	—	1.25	42±6	18±6	174±22	15±4	227±22
	—	2.5	44±8	19±5	179±12	16±4	220±20
	—	5	45±3	22±3	188±16	19±8	227±15
	—	10	49±5	26±9	196±25	31±5	235±20
	+	1.25	47±6	20±5	179±21	26±5	411±35
	+	2.5	48±3	26±5	209±31	39±9	568±36
	+	5	58±7	28±4	598±65	44±3	662±58
	+	10	66±8	38±9	741±56	60±8	834±42
<i>Platicodon grandiflorum</i>	—	1.25	43±4	18±4	175±15	24±4	228±14
	—	2.5	43±4	17±9	174±10	23±5	229±20
	—	5	44±9	18±5	178±11	29±5	232±17
	—	10	40±5	19±3	184±21	27±6	232±19
	+	1.25	43±4	19±2	188±18	22±5	234±19
	+	2.5	43±8	20±3	188±14	23±8	236±20
	+	5	44±5	23±5	189±15	27±9	241±15
	+	10	48±5	28±9	190±11	28±6	247±23
Negative control ¹⁾	—		42±5	19±4	177±16	20±3	237±14
	+		30±4	20±3	173±15	15±3	221±15
Positive control ²⁾	—		2,320±34	1,734±77	945±46	1,227±75	2,098±42
	+		2,094±49	1,797±88	914±37	1,169±80	2,169±53

¹⁾ Negative control: DMSO²⁾ Positive control: S9(—); TA98: 2-nitrofluorene 1 µg/plate, TA100: Sodium azide (NaN₃) 1.5 µg/plate, TA102: Mitomycin C (MMC) 1 µg/plate, TA1535: Sodium azide (NaN₃) 1 µg/plate, TA1537: ICR 191 acridine 1 µg/plate; S9(+) all tester strains 2-aminoanthracene 2 µg/plate (mean±S.D., n=3).

Table 3. Revertant colonies in *Salmonella typhimurium* treated with ethylacetate extract

	S9 mix	Conc. (mg/plate)	No. of revertant per plate				
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	TA102
<i>Angelica decursiva</i>	—	1.25	43±6	19±3	173±15	22±5	226±14
	—	2.5	44±5	18±4	174±11	23±7	231±20
	—	5	43±6	17±3	177±13	27±5	233±17
	—	10	43±5	19±5	186±20	28±4	235±17
	+	1.25	56±9	20±6	200±24	29±7	242±17
	+	2.5	87±11	37±9	214±26	38±7	257±20
	+	5	105±28	45±7	265±23	41±8	293±26
	+	10	146±33	55±8	298±28	63±5	304±27
<i>Polypori umbellata</i>	—	1.25	42±4	19±5	171±13	21±5	234±16
	—	2.5	44±5	14±6	174±15	23±4	235±24
	—	5	45±8	19±4	175±15	24±5	243±11
	—	10	47±5	19±4	176±14	26±4	240±14
	+	1.25	48±7	18±6	171±14	22±5	232±11
	+	2.5	47±7	20±6	174±17	23±7	234±17
	+	5	46±8	20±5	175±12	24±4	241±19
	+	10	47±4	23±6	180±15	29±6	240±10
<i>Astragalus membranaceus</i>	—	1.25	46±6	19±5	164±17	22±4	232±13
	—	2.5	43±5	21±7	168±15	24±5	234±22
	—	5	47±6	24±8	165±14	26±6	234±20
	—	10	49±7	28±4	170±17	28±4	235±16
	+	1.25	167±14	34±7	193±24	25±6	242±16
	+	2.5	197±13	46±8	214±23	29±3	247±14
	+	5	223±25	58±6	238±21	38±4	251±18
	+	10	354±26	69±7	347±25	48±6	263±27
<i>Paeonia lactiflora</i>	—	1.25	42±4	18±5	175±14	21±3	234±12
	—	2.5	44±6	17±7	179±16	24±5	238±23
	—	5	47±9	20±3	178±16	26±4	233±15
	—	10	48±7	21±6	182±14	27±6	236±19
	+	1.25	45±5	19±4	188±18	20±6	221±16
	+	2.5	40±6	20±6	186±15	22±3	225±18
	+	5	39±6	23±3	182±19	24±5	226±20
	+	10	41±3	24±7	189±21	28±6	232±21
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	—	1.25	42±4	16±5	172±13	21±3	233±13
	—	2.5	44±5	17±8	173±14	24±5	234±20
	—	5	45±6	17±4	177±17	26±6	239±15
	—	10	43±6	19±6	180±13	28±4	245±22
	+	1.25	44±4	18±4	174±14	22±5	232±19
	+	2.5	43±5	20±6	178±17	23±7	237±18
	+	5	41±8	22±5	179±13	25±8	242±17
	+	10	43±5	23±7	182±15	26±5	246±24
<i>Cnidium officinale</i>	—	1.25	37±4	19±7	172±14	22±5	235±14
	—	2.5	39±6	20±3	174±12	23±7	235±21
	—	5	45±9	23±5	172±13	26±3	242±19
	—	10	49±5	24±4	203±16	29±5	245±18

Table 3. Continued

	S9 mix	Conc. (mg/plate)	No. of revertant per plate				
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	TA102
<i>Cnidium officinale</i>	+	1.25	55±11	43±7	267±25	34±6	247±18
	+	2.5	86±12	61±12	294±31	39±9	253±23
	+	5	106±24	86±16	324±30	48±6	259±24
	+	10	148±27	99±23	380±17	77±10	283±26
<i>Rehmannia glutinosa</i>	—	1.25	43±4	16±5	168±13	23±5	231±14
	—	2.5	44±5	18±4	173±11	24±3	237±18
	—	5	45±8	21±4	178±14	26±5	245±23
	—	10	46±7	26±9	183±14	28±4	249±25
	+	1.25	42±4	18±4	224±14	36±5	264±23
	+	2.5	46±8	20±8	267±17	45±7	289±25
	+	5	50±3	21±4	285±12	61±4	321±24
	+	10	56±5	25±7	305±18	74±5	349±34
<i>Cyperus rotundus</i>	—	1.25	42±6	19±4	173±14	21±3	231±14
	—	2.5	43±5	21±6	176±11	23±5	235±17
	—	5	44±8	23±4	181±11	24±8	235±15
	—	10	47±7	22±3	189±15	28±8	236±16
	+	1.25	42±5	25±6	171±15	23±5	235±14
	+	2.5	45±5	24±6	175±17	24±5	236±14
	+	5	48±8	25±5	170±12	23±4	240±15
	+	10	49±4	28±6	175±15	26±6	242±21
<i>Dioscorea batatas</i>	—	1.25	43±4	20±5	168±20	17±4	237±15
	—	2.5	43±6	21±6	177±18	16±4	236±21
	—	5	46±5	23±6	180±19	25±4	246±19
	—	10	47±8	28±8	185±17	26±3	254±18
	+	1.25	50±5	27±7	170±20	17±4	334±25
	+	2.5	54±4	31±6	186±25	28±8	367±29
	+	5	55±8	37±8	197±29	58±11	429±32
	+	10	67±6	46±8	226±31	177±16	460±20
<i>Platicodon grandiflorum</i>	—	1.25	42±4	19±9	173±18	23±7	229±13
	—	2.5	42±5	20±8	177±15	21±6	231±20
	—	5	47±8	17±4	180±17	27±5	235±23
	—	10	49±5	22±6	183±19	25±8	233±22
	+	1.25	45±4	23±4	189±16	24±8	235±19
	+	2.5	47±8	25±3	190±19	25±7	238±20
	+	5	48±4	26±8	187±15	28±6	240±23
	+	10	43±9	28±7	189±20	27±5	252±27
Negative control ¹⁾	—		42±5	19±4	177±16	20±3	237±14
	+		30±4	20±3	173±15	15±3	221±15
Positive control ²⁾	—		2,320±34	1,734±77	945±46	1,227±75	2,098±42
	+		2,094±49	1,797±88	914±37	1,169±80	2,169±53

¹⁾ Negative control: DMSO²⁾ Positive control: S9(—); TA98: 2-nitrofluorene 1 µg/plate, TA100: Sodium azide (NaN₃) 1.5 µg/plate, TA102: Mitomycin C (MMC) 1 µg/plate, TA1535: Sodium azide (NaN₃) 1 µg/plate, TA1537: ICR 191 acridine 1 µg/plate; S9(+) all tester strains 2-aminoanthracene 2 µg/plate (mean±S.D., n=3).

- Joo GJ, Kim YM, Woo CJ, Lee OS, Kim JW, So JH, Kwak YY, Lee JJ, Kim JH, Rhee IK. 2005. Development of microbial inoculant using by-product of oriental herbal medicine. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48:201-206
- Kilani S, Ben AR. 2005. Investigation of extracts from (Tunisian) *Cyperus rotundus* as antimutagens and radical scavengers. *Environ Toxicol Pharmacol* 20:478-484
- Kim JM, Jeong HY, Park SW, Youn SS, Cho CS, Kim CJ. 2011. Review of natural materials in diabetic peripheral neuropathy. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 25:1056-1060
- Kim JS, Han SH, Jung BK, Park SJ, Kim HW, Chae H, Kwon YK, Kim BJ. 2010. Effects of the Korean herbal bathing candidates on allergic contact or wound induced dermatitis mice model. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 24: 484-489
- Lee IC, Kim BH, Kim SO, Kim MK. 2011. Skin safety evaluation of a Korean traditional prescription, *Dansam-samul-tang* and *Samwhang-sasim-tang*. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 25:212-216
- Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res* 113:173-215
- Mortelmans K. 2000. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. *Mutation Res* 455:29-60
- Newman DJ, Cragg GM. 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod* 70:461-477
- Ryu JS, Han SK, Shin MS, Koo BC, Choi JH, Lee JW, Jo CR, Ham JS, Lee WK. 2008. Genotoxicological safety evaluation of the gamma-irradiated milk and ice cream using the *Salmonella typhimurium* reversion assay. *J Biomedical Research* 9:11-16
- Weon JB, Ma JY, Yang HJ, Ma CJ. 2011. Neuroprotective activity of fermented *Oyaksungisan*. *Korean J Pharmacogn* 42:22-26
-
- 접 수 : 2013년 9월 2일
최종수정 : 2013년 11월 26일
채 택 : 2013년 12월 2일