



후박 추출물의 유전독성평가

이승호¹ · 류재면¹ · 서임권¹ · 이태희¹ · 김윤배³ · 문성권⁴ · 정경환⁴ · 박기량² · 황석연²

(주)피어바이오텍, ¹주성대학, ²충북대학교, ³충주대학교

Genotoxicity Study of *Magnolia obovata* Extracts

Seung Ho Lee¹, Jae Myun Ryu¹, Im Kwon Seo¹, Tae Hee Lee¹, Yun-Bae Kim³,
Sung Kwon Moon⁴, Kyung-Hwan Jung⁴, Ki-Rang Park² and Seock-Yeon Hwang²

¹PeerBiotech Co., Ltd. 12 Gaeshin-dong, Cheongju, Chungbuk 361-763

²Department of Biotechnology and Clinical Laboratory Science, Juseong College, Chungbuk 361-793

³College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763,

⁴Deptment of Food & Biotechnology, Chungju National University, Chungbuk, 380-702, Korea

Received November 29, 2006; Accepted February 22, 2007

To evaluate the immuno-toxicity of magnolia extracts, mutagenicity of *Salmonella*, chromosome aberration of Chinese hamster ovary (CHO) cells and micronucleus formation in rats were examined. Magnolia extracts at the concentrations of 312–5,000 µg/plate did not induce mutagenicity in *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100 and TA 1535 with and without metabolic activation of S-9 mixture. In chromosome aberration assay, Magnolia extracts at the concentrations of 50–800 µg/plate did not cause a significant chromosome aberration in CHO cells with and without metabolic activation of S-9 mixture. Magnolia extracts were treated with dose of 0.5, 1 and 2 g/kg in ICR mice. After 48 hours, the frequencies of the micro-nucleated polychromasia erythrocytes (MNPCE) were determined in bone marrows isolated from the mice. Magnolia extracts did not increase the incidence of polychromasia erythrocytes of bone marrow in ICR mice. These results show that Magnolia extracts did not induce any harmful genotoxic effects.

Key words: Magnolia extracts, Mutagenicity, Chromosome aberration assay, Micronucleus formation, Micro-nucleated polychromasia erythrocytes

서 론

한의학과 중의학에서 사용되는 한약재들은 많은 질병의 치료에 사용되고 있다. 일본 목련(*magnolia obovata*)의 껍질인 후박은 불안, 정신질환, 해열, 염증, 위 관련 증상 그리고 중풍에 한의학에서 수 세기 동안 사용되어 왔다 (Boca Raton, 2002). 후박의 주요화합물 중에 하나인 Magnol은 발암억제, 암 증식억제, 항산화 활성 등이 보고되고 있다. 또한, 목련의 껍질과 잎에서 분리되고 있는 Honokiol은 다양한 암세포에 항암 효과를 나타낸다고 보

고되고 있다(Kenji *et al.*, 2005; Xianhe *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2003). 이러한 사실들은 한약재로 사용되고 있는 후박이 화학적 암 예방제로서의 사용 가능성을 나타내고 있다.

천연물 유래 항암제는 강력한 항암효과를 나타내지만, 심각한 부작용과 독성 때문에 약으로 개발되지 못하는 경우가 빈번하다. 또한, 새로 개발된 천연물 유래 항암제가 기존에 알려진 항암제와는 다른 기전의 항암효과를 나타내거나 뛰어난 효과를 나타내지만, 유전적인 독성으로 인하여 유전자의 변형이 생기고 또 다른 암의 유발물질로 작용할 수도 있다. 한약재, 후박의 많은 화합물들이 최근 많은 논문에서 다양한 항암활성을 나타내고 있음에도 불구하고 아직까지 후박의 유전독성에 대한 문헌보고는 없다.

본 연구에서는 많은 암세포에 세포독성을 나타내어 화

Correspondence to: Seock-Yeon Hwang, Department of Clinical Laboratory Science, Juseong College, Chungbuk 363-794, Korea
E-mail: syhwang@jsc.ac.kr

학적 암 예방제로 개발하고자 하는 후박 열수 추출물에 대한 유전독성 여부를 평가하였다. 유전독성 평가는 식품의약품안전청고시 제1999-61호의 "의약품 등의 독성시험 기준"에 따라 실시하였으며, *Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이시험과 포유동물 배양세포를 이용한 염색체시험, 그리고 소핵 시험을 수행하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약. 후박 추출물은 갈색 고휘분말로 목련나무 껍질의 열수추출물이며 충주대 식품공학과에서 제조하였다. 시험물질은 4°C에 보관하였으며, 시험당일에 증류수에 용해시켜 사용하였다. Eagle's minimum essential medium(EMEM), 0.25% trypsin-EDTA, trypan blue, colcemide, fetal bovine serum(FBS)는 Invitrogen(Gibco-Invitrogen Corporation Inc. of Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. 모든 화학물질은 분석용(Analytical grade 또는 highest grade) 시약을 사용하였고, S-9 혼합액은 MOLTOX Inc.(Molecular Toxicology Inc. of Boone NC 28607 USA)에서 11-01L RAT LIVER LS-9을 구입, 조제하여 사용하였다.

*Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이시험 균주 및 배양조건.

시험용 균주. 돌연변이 복귀 시험을 위하여 균주는 *Salmonella typhimurium* LT2주 유래의 histidine 요구성 변이균주인 TA 98, TA 100 그리고 TA 1535를 사용하여 0.8% oxioid nutrient broth No. 2 배양액에 접종한 다음 37°C에 16시간 동안 200회/분의 속도로 선회 배양하였다. 각 균주는 본시험에 앞서 histidine 요구성, crystal violet 감수성, UV 감수성, ampicillin 또는 tetracyclin 내성 및 자발복귀 돌연변이 빈도 등의 유전적인 특성을 확인하였다.

시험물질 및 대조물질: Magnolia extracts는 시험당일 멸균증류수에 농도 별로 희석하여 plate에 시험물질의 액 양이 0.1 ml/plate가 되도록 제조하여 사용하였다. 각각의 균주에 대한 양성대조물질 sodium azide(SA), 2-aminoanthracene(2-AA)은 DMSO에 용해하여 사용하였고 음성대조물질로 멸균증류수를 사용하였다.

복귀돌연변이시험: Ames(Ames et al., 1975; Maron et al., 1983)에 의하여 확립된 방법을 사용하여 다음의 복귀돌연변이시험을 수행하였다. 시험물질의 농도 설정을 위한 예비독성시험은 TA 100 균주를 사용하였으며, 5 mg/plate를 최고농도로 하고 공비 2로 5단계 농도를 취하여 균주에 처리하였으며 직접법과 S-9 혼합액을 이용한

대사 활성법을 수행하였다. 예비독성시험 결과 5,000, 2,500, 1,250, 625, 313 µg/plate의 농도에서 시험물질에 의한 세포독성이 보이지 않아 본시험에서도 동일한 5,000, 2,500, 1,250, 625, 313 µg/plate의 농도를 사용하였다. 각 균주는 행동시켜 nutrient broth(Becton Dickinson)에 접종한 후 37°C에서 10시간 동안 180회/분의 속도로 진탕 배양 하였다. 각 균주의 배양액(약 1×10^7 cell/ml) 0.1 ml, 각 농도의 시험물질이 0.1 ml, 인산완충용액(0.2 M phosphate buffer, pH 7.4) 0.5 ml을 첨가하여 37°C에서 30분간 pre-incubation을 하였다. 이 때 대사 균 현탁액 0.1 ml에, 여러 농도의 후박 추출물 및 인산완충액 이때 S-9 혼합액에 의한 대사를 위해서는 인산완충액 대신 S-9 혼합액(10% v/v, S-9 함유) 0.1 ml을 첨가하였다. 배양종료 후 45°C에서 용해한 top agar(연한천 용액) 2 ml를 첨가하여 잘 혼합한 후, 변이원성 검색용 배지(Vogel-Bonner minimal medium E) 위에 증층 하여 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 콜로니 수를 계측하였다. 균의 생육저해와 시험물질의 침전, 분출을 육안 및 실체 현미경을 사용하여 관찰하였다. 독성여부의 판정을 위해서는 각 용량 당 3장의 plate를 사용하여 복귀변이성 콜로니 수의 평균치를 구하였다. 시험물질을 처리한 모든 균에서 복귀변이성 콜로니 수가 TA 98과 TA 100 균주에서는 음성 대조군의 2배 이상이고 TA 1535에서는 3배 이상이며, 용량반응관계가 인정될 때, 복귀변이 유발 능 양성으로 판정하였다 (Kim and Margolin, 1999).

통계분석: 복귀돌연변이시험에서 음성 대조군과 각 용량군 사이의 유의성은 two-tailed *t*-test($p < 0.05$)를 이용하여 검정하였다.

포유류 배양세포를 이용한 염색체 이상시험.

세포 및 배양조건: 포유동물세포인 Chinese hamster ovary(CHO) cells을 5% CO₂ 배양기에서 37°C 온도로 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco-Invitrogen Corporation Inc. of Grand Island, NY, USA)과 10 µg/ml의 penicillin과 10 µg/ml의 streptomycin이 포함된 Eagle's minimum essential medium(EMEM, Gibco-Invitrogen Corporation Inc. of Grand Island, NY, USA)에 단층 배양하였다.

시험물질 및 대조물질: 후박에서 추출한 시험물질은 멸균증류수에 희석하였고 시험물질의 농도를 결정하기 위하여 예비독성시험을 실시하였다. 1×10^5 세포를 사용하였고, 6시간 동안 추출물을 농도별(공비 2로 5 단계의 농도)로 처리하고 0.4% trypan blue로 염색하여 염색 세포 수를 세어서 세포증식을 50% 억제하는 농도를 산출하고 본 시험의 최고농도로 하였다. 양성대조물질인 mitomy-

cin C(MMC)은 멸균 증류수에 그리고 Benzo(a)pyrene (B(a)P)은 DMSO에 용해하여 각각 1과 20 µg/ml의 농도로 사용하였다. 음성대조물질은 각각의 용매를 사용하였고, 모든 시험은 2회 반복하여 수행하였다.

염색체 이상시험: 시험물질의 염색체 이상 여부를 판단하기 위하여 식품의약품안전청고시 제1999-61호의 "의약품 등의 독성시험기준"에 따라 실험하였다. 예비독성시험에서 결정된 50% 세포독성농도를 최고 농도로 하고, 공비 2로 3단계의 농도를 시험농도로 하였다. 대사활성 존재하의 시험은 CHO(Chinese Hamster Ovary) 세포를 Petri dish에서 3일간 배양 후 시험물질(50 µg/plate~800 µg/plate) 및 양성대조물질(Benzo(a)pyrene, 20 µg/ml) 함유 배양액에 S-9 혼합액(배양액의 20%)을 첨가하여 6시간 배양하고 보통배양액으로 교환하여 18시간 이상 더 배양하였고 세포 수거 2시간 전에 colcemid(Gibco-Invitrogen Corporation, Grand Island, NY, USA)를 처리한 후, 0.25% trypsin-EDTA를 사용하여 세포를 배양 용기로부터 떼어낸 후 원심 분리하여 세포를 모았다. 대사활성 부재하의 시험은 CHO 세포를 Petri dish에서 3일간 배양 후 시험물질(37.5 µg/plate~600 µg/plate) 및 양성대조물질(mitomycin C, 1 µg/ml) 함유 배양액을 첨가하여 24시간 배양하였고, 세포 수거 2시간 전에 colcemid(Gibco-Invitrogen Corporation Inc. of Grand Island, NY, USA)를 처리한 후, 0.25% trypsin-EDTA를 사용하여 세포를 배양 용기로부터 떼어낸 후 원심 분리하여 세포를 모았다. 세포를 KCl 저장액(37°C)에서 20분간 방치 후, 고정액(methanol : glacial acetic acid = 3 : 1)으로 3번 반복하여 고정시킨 후 slide를 제작하였다. Slide를 완전히 말린 후, 5% Giemsa(Gibco-Invitrogen Corporation Inc. of Grand Island, NY, USA) 용액으로 염색하고 현미경으로 관찰하였다. 한 농도시험 당 100개의 세포분열 중기상을 현미경하(1,000×)에서 염색체이상을 유무를 관찰하였다. 염색체이상은 크게 구조이상(structural aberration)과 수적이상(numerical aberration)으로 분류하였고, 구조이상은 gap(chromatid and chromosome gap), ctb(chromatid break), cte(chromatid exchange), csb(chromosome break), cse(chromosome exchange)으로 구분하여 기록하였다. 구조이상의 종류를 1개 이상 갖는 세포를 양성세포 1개로 계수하고 그 종류를 각각 기록하였다. 염색체이상의 수가 통계학적으로 유의성 있게 용량 의존적으로 증가하거나 하나 이상의 용량단계에서 재현성 있게 양성반응을 나타낼 경우를 양성으로 하였다.

통계분석: 염색체 이상시험에서 음성대조군과 각 투여군간의 통계적 용량군 사이의 유의성은 Dunnett's($p < 0.05$)를 이용하여 검정하였다.

마우스 골수세포를 이용한 소핵시험.

실험동물: 생후 5주된 수컷과 암컷 ICR 마우스를 (주) 중앙실험동물로부터 구입하여, 1주간 순화시키면서 일반 증상을 관찰하고, 체중을 측정하여 건강한 것만을 선별하여 사용하였다. 실험기간 중의 실험동물은 격리용 마우스 케이지((주)삼광, 충남 금산)당 5마리씩 수용하였고, 사육실 환경조건은 실내온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 10\%$, 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시), 조도는 150~200 lux로 조절되었다. 평균 정제수와 실험동물용 사료(삼양사료, 경기도 이천)를 자유로이 섭취하도록 하였다. 순화기간을 거친 모든 동물의 체중을 측정, 20~30 g의 범위에 드는 동물을 선별하여 무작위로 각 군에 5마리씩 배분하였다.

시험물질 및 대조물질: 본 시험에서는 투여 량 및 표본제작시기의 결정을 위하여 Hayashi *et al.*(1984)의 투여방법에 따라 각 군에 수컷 2마리씩을 배정하여 50%의 치사량을 구하였으며, 생리식염수 10 ml/kg을 용매 대조군으로, mitomycin C 2 mg/kg을 양성 대조군으로 설정하였다.

소핵시험: 후박추출물을 1회 복강 투여하고 24시간째에 골수를 채취하여 도말 표본을 제작하고 광학현미경하에서 관찰하여 1,000개의 다염성적혈구에서의 소핵 출현 빈도수를 계수하였다. 시험물질의 농도를 2 g/kg, 1 g/kg, 0.5 g/kg로 하고 각각의 용량을 1회 복강투여 후 48시간째에 소핵을 관찰하였다. 경추탈골로 희생한 동물의 양쪽 대퇴골로부터 골수를 0.5 ml의 FBS로 채취한 후 골수세포 현탁액을 1,500 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 상등액을 제거한 후 적당량의 현탁액을 슬라이드에 도말하고 공기 중에서 충분히 건조시킨 다음 메탄올에 5분간 고정하였다. 표본을 5% Giemsa 용액(in Gurr R-66, pH 6.8)의 1/150 M phosphate buffer)에 30분간 염색하였다. 염색 후 동일 완충액에 1회 세척하고 0.004%의 구연산(Citric acid) 수용액에 수초간 담근 후 증류수에 수회 세척하고 공기 중에서 건조시켰다. 소핵 관찰은 2명의 관찰자에 의해 맹검법으로 검정 하였다. 마우스 1마리당 1,000개의 적혈구에서 다염성적혈구(polychromatic erythrocyte, PCE)와 정염성적혈구(normochromatic erythrocyte, NCE)의 비를 구하고, 다시 1,000개의 PCE 중에서 소핵을 가진 다염성 적혈구(micronucleated PCE, MNPCE)의 출현빈도를 구하였다. 계수 시 소핵의 크기는 세포직경의 1/2로부터 식별 가능한 범위까지로 하였으며, 주변 유헤세포의 핵과 염색상이 동일한 것을 선택하였다.

통계분석: 소핵 시험에서 통계분석은 Hayashi *et al.* (1989)의 방법에 따라 3단계의 통계 처리법을 적용하여 결과를 분석하였다. 1, 2단계의 비교자료 활용에 의한 검

정을 거쳐, 3단계에는 음성 대조군과 MNPCE의 출현빈도에 관한 유의차는 Cochran Armitage 경향 검정법을, PCE의 출현빈도에 관한 유의차는 *t*-test를 행하였다.

결과 및 고찰

Salmonella typhimurium을 이용한 복귀돌연변이시험. 후박열수추출물은 *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100 그리고 TA 1535 균주에 처리되었고, 복귀돌연변이 활성은 대사활성계의 존재(+S9)와 부재하(-S9)에서 실험하였다. 시험의 적용용량은 5,000 µg/plate를 최고용량으로 하여 공비 2로 5단계를 설정하여, 312 µg/plate~5,000 µg/plate로 실험하였고, 실험결과는 Table 1에 정리하였다. Table 1에 보여준 것과 마찬가지로, 대사활성계 부재하(-S9)에서, 후박열수추출물을 *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100 그리고 TA 1535 균주에 처리하였을 때, 양성 대조군에서는 복귀돌연변이를 증가시켰지만, 시험물질은 모든 용량 단계에서 복귀돌연변이가 음성 대조군과 같은 정도로 이고, 용량 의존적인 복귀돌연변이를 나타내지는 않았다. 대사활성계 존재하(+S9)에서, 대사활성계 부재하의 결과와 마찬가지로, 시험물질의 모든 용량 단계에서 복귀돌연변이는 음성 대조군과 같은 정도로 이고, 용량 의존적인 복귀돌연변이를 나타내지는 않았다. 이 실험의 조건에서, 후박열수추출물은 *Salmonella typhimurium*의 복귀돌연변이를 나타내지 않았다.

염색체 이상시험. 후박열수추출물은 대사활성계의 존재(+S9)와 부재하(-S9)의 Chinese Hamster Ovary

(CHO) cell line에 처리되었다. 이 실험에서 적용용량 결정은 MTT assay 변형 방법인 CCK-8 cell proliferation assay kit(Dojindo, Japan)을 이용하여 수행하였다. 최고 농도는 세포의 성장을 50% 억제하는 농도 (IC₅₀)로 결정하였다. 그 결과 S9 혼합물 존재 시 최고농도는 800 µg/ml으로, S9 혼합물 부재 시 최고농도는 600 µg/ml으로 결정되었다. 시험의 적용용량은 S9 혼합물 존재 시 800 µg/plate를 최고용량으로 하여 공비 2로 5단계를 설정하여, 50 µg/plate~800 µg/plate로 실험하였고, S9 혼합물 부재 시 600 µg/plate를 최고용량으로 하여 공비 2로 5단계를 설정하여, 37.5 µg/plate~600 µg/plate로 실험하였다. Table 2에 정리한 것 같이, S9 혼합물 부재 시 후박열수추출물 시험군은 모든 용량에서 염색체이상의 유의적인 증가 및 용량의존성을 나타내지는 않았다. S9 혼합물 존재 시 또한, 후박열수추출물 시험군은 모든 용량에서 염색체이상의 유의적인 증가 및 용량의존성을 나타내지는 않았다. CHO cell을 이용하여 염색체 이상 시험결과, 후박열수추출물은 이 실험 조건하에서 염색체 이상을 유발하지 않는 것으로 나타났다.

마우스 골수세포를 이용한 소핵시험. 수컷 ICR mice에 대한 복강급성독성시험 결과, 후박열수추출물은 5 g/kg, 2 g/kg 그리고 0.5 g/kg에서 독성을 나타내지 않아, 소핵시험은 2 g/kg, 1 g/kg 그리고 0.5 g/kg의 용량으로, 시험용량의 공비는 2로 3단계의 용량을 설정하여 실시하였다. 수컷 ICR mice는 군당 5마리로 후박열수추출물을 1회 복강 투여 후 48시간이 경과하였을 때 골수를 채취하여 표본을 제작하였다. 제작된 표본 도말면의 세포밀도를

Table 1. Mutagenicity of Magnolia extracts in *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535 in the presence or absence of S-9 metabolic activation system

Compound	Concentration (µg/ml)	S-9 mix	Number of revertant colonies/plate (Mean ± S.D.)		
			TA 98	TA 100	TA 1535
DW		-	30 ± 2.7	152 ± 6.5	44 ± 6.0
Magnolia Ex.	5,000	-	22 ± 2.3	149 ± 3.5	40 ± 5.5
	2,500	-	34 ± 0.3	153 ± 2.5	39 ± 5.0
	1,250	-	32 ± 0.3	155 ± 5.5	27 ± 4.0
	625	-	27 ± 1.3	147 ± 10	30 ± 4.0
	312	-	27 ± 1.3	160 ± 1	51 ± 7.5
SAZ	1.5	-	-	1,565 ± 15	143 ± 2.5
2-AF	1	-	270 ± 13.3	-	-
DW		+	21 ± 0.0	137 ± 9	15 ± 0.7
Magnolia Ex.	5,000	+	17 ± 0.2	170 ± 10	9 ± 0.4
	2,500	+	16 ± 0.2	168 ± 6	16 ± 0.3
	1,250	+	16 ± 0.0	211 ± 22	4 ± 0.7
	625	+	20 ± 0.1	237 ± 3.5	18 ± 2.5
	312	+	21 ± 0.0	237 ± 2.5	18 ± 0.5
2-AA	1	+	169 ± 9.0	1,575 ± 85	191 ± 27.0

SAZ, Sodium azide; 2-AF, 2-Aminofluorene; 2-AA, 2-Aminoanthracene.

Table 2. Chromosomal aberration assay for *Magnolia* extracts in Chinese hamster ovary cells in the presence or absence of S-9 metabolic activation system

Treatment			Chromosome aberrations/100 cells						Extra aberration			
Compound	Con. ($\mu\text{g/ml}$)	hr	S-9 mix	Chromitid type		Chromosome type		Total aberration (%)	ctg	csg	pol	nor
				ctb	cte	csb	cse					
DW	-	24	-	0	1	8	4	13	0	2	0	85
Magnolia Ex.	600	24	-	3	6	4	5	18	0	1	1	80
	300	24	-	0	2	0	1	3	0	0	3	94
	150	24	-	2	7	3	3	15	0	1	2	92
	75	24	-	0	2	1	0	3	0	0	1	96
	37.5	24	-	1	3	4	5	13	1	0	0	86
MMC	1	24	-	3	29	2	15	49	1	1	3	45
DW	-	6	+	0	8	1	2	11	2	1	0	86
Magnolia Ex.	800	6	+	2	10	5	3	20	2	0	0	78
	400	6	+	0	8	8	5	21	1	1	0	77
	200	6	+	2	7	3	4	16	0	0	0	84
	100	6	+	2	6	1	1	10	0	0	0	90
	50	6	+	0	4	3	1	8	3	1	0	88
B(a)P	20	6	+	8	10	7	15	40	4	0	2	54

Con., concentration; ctb, chromatid break; cte, chromatid exchange; csb, chromosome break; cse, chromosome exchange; ctg, chromatid gap; csg, chromosome gap; pol, polyploid; nor, normal; MMC, mitomycin C; B(a)P, Benzo(a)pyrene.

Table 3. Micronucleus test of *Magnolia obovata* extracts in ICR male mice

Compound	Route	Dose (mg/kg)	No. of mice	Time (hr)	MNPCE (Mean \pm S.D)	PCE/(PCE + NCE) (Mean \pm S.D)
DW	i.p.	-	5	48	1.0 \pm 1.25	0.472 \pm 0.55
Magnolia Ex.	i.p.	2,000	5	48	2.50 \pm 1.51	0.559 \pm 0.30*
	i.p.	1,000	5	48	1.50 \pm 1.51	0.507 \pm 0.121
	i.p.	500	5	48	0.20 \pm 0.42	0.409 \pm 0.085
	i.p.	2	5	48	26.90 \pm 7.20**	0.553 \pm 0.051

MMC, mitomycin C; MNPCE, micronucleated polychromatic erythrocytes; PCE, polychromatic erythrocytes; NCE, normochromatic erythrocytes; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

현미경으로 관찰하였고, 골수내 미성숙 적혈구에 대한 다염성적혈구의 비와 소핵을 지니는 다염성적혈구의 출현빈도를 용매대조군에 대해 통계처리 하였다. 통계처리 결과, 후박열수추출물은 유의성 있는 소핵 유발 능을 나타내지 않았다. *Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이시험, 포유류 배양세포를 이용한 염색체 이상시험 그리고 소핵시험을 통한 유전독성 실험 결과, 후박 열수추출물은 복귀돌연변이와 염색체 이상을 일으키지 않고 또한, 소핵형성을 유발하지 않으므로 유전독성을 나타내지 않음을 알 수 있었다.

참고문헌

- Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens & mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **31**, 347-364.
- Bai, X., Cerimele, F., Ushio-Fukai, M., Waqas, M., Campbell, P.M., Govindarajan, B., Der, C.J., Battle, T., Frank, D.A., Ye, K., Murad, E., Dubiel, W., Soff, G. and Arbiser, J.L. (2003). Honokiol, a small molecular weight natural product, inhibits angiogenesis *in vitro* and tumor growth *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, **278**, 35501-35507.
- Boca Raton, F.L. (2002). Li TSC. Chinese and Related North American Herbs: Phytopharmacology and Therapeutic Values. *CRC Press*.
- Hayashi, M., Sofuni, T. and Ishidate, M. Jr. (1984). A pilot experiment for the micronucleus test: The multi-sampling at multi-dose levels method. *Mutat. Res.*, **141**, 165-169.
- Hayashi, M., Yoshimura, I., Sofuni, T. and Ishidate, M. Jr. (1989). A procedure for data analysis of the rodent micronucleus test involving a historical control. *Environ. Mol. Mutagen.*, **13**, 347-356.
- Kenji, I., Teru, H., Makoto, H., Noopur, R., Shaji, K., Hiro-masa, H., Norihiko, S., Hiroshi, Y., Aldo, M.R., Paul, R., Klaus, P., Steven, L.G., Dharminder, C., Kazuo, T., Jack, A. and Kenneth, C.A. (2005). Honokiol overcomes conventional drug resistance in human multiple myeloma by induction of caspase-dependent and -independent apoptosis. *Blood*, **106**, 1794-1800.

- Kim, B.S. and Margolin, B.H. (1999). Statistical methods for the Ames Salmonella assay: a review. *Mutat. Res.*, **436**, 113-122.
- Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173-215.
- Yang, S.E., Hsieh, M.T., Tsai, T.H. and Hsu, S.L. (2003). Effector mechanism of magnolol-induced apoptosis in human lung squamous carcinoma CH27 cells. *Br. J. Pharmacol.*, **138**, 193201.
- 식품의약품안전청고시 제1999-61호 (1999). 의약품 등의 독성시험기준-유전독성시험.