

참당귀(*Angelica gigas* Nakai)의 체력증진 및 면역조절효과

전용덕¹, 김수진^{2*}

¹우석대학교 한약학과, 교수, ²대구한의대학교 바이오산업융합학부, 교수

The Regulatory Effect of *Angelica gigas* Nakai on Immune Enhancement and Cytokine Production *in vivo* and *in vitro*

Yong-Deok Jeon¹ and Su-Jin Kim^{2*}

¹Professor, Department of Korean Pharmacy, Woosuk University, Wanju 55338, Korea

²Professor, Department of Biotechnology and Convergence, Daegu Haany University, Kyungsan 38578, Korea

Abstract - Natural products are important sources for drug development because they have a wide variety of useful biological properties. *Angelica gigas* Nakai (AGN) has been used as an herbal medicine for treatment of colds, pain, and anemia. The present study was designed to evaluate the regulatory effect of AGN on immune enhancement *in vivo* and *in vitro*. To investigate the immune-enhancing effect of AGN, we used forced swimming test (FST) experimental model. Mice were orally administered by AGN or distilled water for 14 days and then immobility time and biological parameters in serum were measured. The results showed that immobility time in AGN treatment group was significantly reduced in comparison with the control group. Plasma levels of blood urea nitrogen and lactate dehydrogenase in AGN group was significantly decreased compared with control group. Additionally, we showed that AGN treatment significantly increased immune-related cytokines such as interleukin (IL)-4, IL-2, and interferon (IFN)- γ levels in Molt-4 cells. Collectively, the findings provide experimental evidence that AGN may be effective in improving immune function.

Key words - *Angelica gigas* Nakai, Immune enhancement, T cell

서 언

면역은 외부의 다양한 요인에 대한 신체를 방어 방어할 뿐만 아니라 면역기능에 이상이 생기면 기본적인 세포 조절 능력도 변하기 때문에 건강한 인체 유지에 매우 중요한 반응이다 (Basha *et al.*, 2014). 다양한 환경적인 요인으로 인해 면역 조절 기능이 저하되면 면역 과민반응, T세포의 불균형과 세포 활성화 물질 과잉 생성의 이상 증상을 유도하여 면역 항상성 저하 및 다양한 질환을 유발하게 된다(Kumar and Bhat, 2016). 최근 서구 식 생활, 운동 부족, 스트레스 등 현대인들은 다양한 원인에 의한 면역력 저하로 각종 질병에 노출되어 있으며, 면역 반응 조절능력은 성인병 등 면역관련 질병의 예방과 치료에 매우 중요한 반응이다. 일반적으로 면역 반응은 골수에서 생성되고 비장,

흉선 및 임파절 등에서 성숙하는 면역 세포들에 의해 매개되며 선천성 면역반응을 매개하는 대식세포, 수지상 세포 등과, 오랜 기간 동안 감염된 다양한 면역원에 대한 경험을 토대로 얻어진 획득성 면역을 담당하는 T림파구 등이 대표적인 면역 세포로 알려져 있다(Nathaniel *et al.*, 2020). 특히 세포 활성화물질은 면역 반응을 조절하는 매우 중요한 역할을 하며, interleukin (IL)-2와 interferon (IFN)- γ 등을 분비하는 Th₁형 세포활성물질과 IL-4 및 IL-5를 분비하는 Th₂세포 활성화물질이 존재한다(Moro *et al.*, 2010). Th₁형 세포활성물질인 IFN- γ 는 IgM을 IgG로 전환되도록 유도하고 Th₂형 세포 활성화물질인 IL-4는 B세포 매개의 체액성 면역반응을 촉진시킨다(Dominika *et al.*, 2021). 따라서 T세포에서 분비되는 IFN- γ , IL-2 및 IL-4등의 다양한 세포 활성화물질은 면역반응을 조절하는 핵심인자로 알려져 있다.

참당귀(*Angelica gigas* Nakai, AGN)는 미나리과(Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본으로 약용을 목적으로 재배되고 있다. 당

*교신저자: E-mail ks1009@dhu.ac.kr

Tel. +82-53-819-1389

귀는 약성이 따뜻하고, 무독하여 다양한 질환에서 생약재로 사용되고 있으며 당뇨 개선 효과, 혈소판 응집 억제 작용, 항산화 효능 간질환 개선 및 항암 작용 등이 보고되고 있다(Kim *et al.*, 2004; Oh *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2007). 국내에서 자생하고 있는 참당귀의 유효성분으로는 decursin, nodakentin, limonene, β -sitosterol 및 umbelliferon 등이 알려져 있다(Kim *et al.*, 2009).

최근 면역 기능에 대한 중요성이 대두되면서 면역 기능을 조절할 수 있는 기능성 소재 개발 연구가 활발히 진행되고 있으나 효능 및 안전성 입증에 위한 과학적 근거가 부족한 실정이다. 강제수영부하시험(Forced swimming test, FST)은 항우울, 항피로 및 체력증진 측정을 위해 사용되고 있는 동물실험법으로 FST 수행 중에 탈출의 의지를 포기하고 헤엄치는 행위를 자포자기한 상태를 부동 상태라 한다(Shin *et al.*, 2006). 강제수영 스트레스에 노출되면 행동의 변화를 일으키게 되는데 절망, 속수무책인 우울 상태의 증상이 이러한 행동의 변화를 초래하는 것으로 해석된다. FST는 생리적 또는 내분비와 면역 기능 변화와 관련된 강력한 정신 생리적 스트레스 요인을 활용한 것으로 최근 면역조절 요소 스크리닝에 유용하게 이용된다(De-Mello, 1994). 강제수영부하시험에서 부동 시간의 감소는 수영 유지를 위한 체력 및 지구력 증진과 관련이 있음을 시사하여 피로회복, 체력증진 및 스테미나(stamina) 측정도에 활용되고 있다(Ozturk *et al.*, 2002; Shin *et al.*, 2006). 본 연구에서는 면역조절 관련 건강 기능성 소재를 개발하기 위해 강제수영부하시험 모델에서 참당귀의 체력증진 효능 및 혈액 내 생화학적 지표물질의 조절 효과를 측정하였다. 또한 T 세포주인 Molt-4 세포에서 참당귀의 T세포 증식능 및 IFN- γ , IL-4, IL-2의 발현 변화를 측정하였다.

재료 및 방법

실험동물

본 실험에서는 6주령의 웅성 ICR mice를 효창(Dalseo, Daegu, Korea)에서 공급받아 약 7일간 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 명암주기는 12시간씩 자동적으로 조절되는 환경에서 케이지 당 7마리씩 사육하였다. 사육실의 온도는 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지되었고, 습도는 $55 \pm 5\%$ 로 하였으며, 조명은 12시간 주기로 사용하였다. 실험 기간에 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 본 동물실험은 대구한의대학교 동물실험윤리위원회 규정에 따라 진행하였다(DHU2020-074).

실험재료

Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640와 Fetal bovine serum (FBS)는 Gibco BRL (Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다. Dimethyl sulfoxide (DMSO), 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 및 그 외 모든 시약은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. RNA extraction kit는 iNTRON BIOTECHNOLOGY (Jungwongu, Seongnam, Korea)에서 구입하였다. 참당귀 100 g을 70% 에탄올 (1L)을 사용하여 실온에서 교반기로 추출 후 얻어진 상등액을 Hahnshin S&T Co.의 rotary evaporator (Gimpo, Gyeonggi-do, Korea)로 감압 농축 후 동결 건조기로 건조하였다.

강제수영부하시험(Forced swimming test, FST)

강제수영부하시험은 Porsolt *et al.* (1977) 방법을 응용하여 수행하였다. ICR계 흰쥐를 $23\text{--}25^\circ\text{C}$, 10 cm의 물을 포함하는 glass cylinders (height: 25 cm, diameter: 10 cm)에 각각 떨어트린다. 물 위에 똑바로 선 자세를 취하고 머리를 물 위에 내놓고 작은 움직임만을 나타낼 때 부동임을 판단한다. 테스트 기간 6분 중 마지막 4분 동안 부동 상태를 시간을 측정한다. 물과 참당귀 추출물을 14일 동안 경구투여 하면서 부동시간을 7일째와 14일째 측정하였다. 실험군은 대조군 및 참당귀 투여군(50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg)으로 총 4 군으로 분류하고 14일 동안 경구 투여하면서 부동 시간을 측정하였다.

혈청분석

강제수영부하 실험 종료 후 마우스에서 심장 채혈을 통해 혈액을 채취한 후 4°C 에서 10,000 rpm의 속도로 10분 동안 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청으로 혈장 요소태질소(BUN; blood urea nitrogen), Creatine kinase (CK), Lactate dehydrogenase (LDH) 효소 활성도 및 glucose 함량을 자동 분석기(Hitachi 747, Hitachi, Japan)를 이용하여 측정하였다.

세포 배양

인간 T 세포주인 Molt-4 세포는 10% FBS, penicillin 100 IU/mL와 streptomycin $50 \mu\text{g/mL}$ 을 함유한 RPMI 배양액에서 37°C , 5.0% CO_2 조건에서 배양하였다.

세포 생존율 측정

세포 생존율 측정은 세포의 미토콘드리아 탈수소 효소인 succinate dehydrogenase에 의해 formazan을 형성하는 원리를

Table 1. Information of oligonucleotide primers for RT-PCR

IFN- γ	Forward 5'-CCA ACC TAA GCA AGATCC CA-3' Reverse 5'-GGG TCA CCT GAC ACA TTC AA-3'
IL-2	Forward 5'-AAG TTT TAC ATG CCC AAG AAG G-3' Reverse 5'-AAG TGA AAG TTT TTG CTT TGA GCT A-3'
IL-4	Forward 5'-CAC CTT ACA GGA GAT CAT CAA AAC T-3' Reverse 5'-TCC TTC TCA GTT GTG TTC TTG G-3'
GAPDH	Forward 5'-CCACCCATGGCAAATTCATGGCA-3' Reverse 5'-TCTAGACGGCAGGTCAGGTCCACC-3'

이용하여 정하였다(Jeon *et al.*, 2021). 세포를 24 well plate에 3×10^5 cells/well로 분주하고, 다양한 농도의 참당귀 추출물을 (0.25, 0.5, 1, 2 mg/mL)을 처리한 후 24시간 배양하였다. 이후 MITT (5 mg/mL) 용액 50 μ L을 첨가한 후 생성된 formazan을 DMSO로 용해하였다. 생성된 formazan양은 microplate reader (Molecular Devices, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Quantitative real-time PCR (qRT-PCR)

Molt-4 세포를 1×10^6 cells/well로 6-well plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후 참당귀 추출물을 0.25, 0.5, 1, 2 mg/mL의 농도로 24시간 배양하였다. 획득한 세포를 easy-BLUE total RNA extraction kit로 RNA를 추출한 후 동량의 RNA (2 μ g)로부터 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 사이토카인 발현은 Table 1에 제시한 각각의 primer와 함께 AMPIGENE[®] qPCR Green Mix Lo-ROX를 이용하여 확인하였다.

통계분석

실험 결과는 최소 3번 반복 실험하였고, 통계프로그램 Graph Pad Prism software 5.0를 이용하여 평균(mean) \pm 표준편차(standard deviation, S.D.)로 나타내었다. 각 데이터의 통계분석은 ANOVA 와 Bonferroni's post-hoc test에 의해 검정하였고, $P < 0.05$ 인 경우 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결과 및 고찰

참당귀 추출물의 체력증진 효과

강제수영부하시험은 물속에서 마우스가 수영 유지를 위한 체력 및 지구력향상 정도를 부동 시간 변화로 측정하는 실험

로 항우울, 항피로 및 체력증진 측정에 활용되고 있다. 본 연구에서는 참당귀 추출물의 체력증진 효능을 측정하기 강제수영부하시험을 시행하였다. 마우스에 다양한 농도(50, 100 및 200 mg/kg) 참당귀 추출물을 14일 동안 경구 투여 하면서 부동 시간 변화에 대한 영향을 측정하였다. 실험 결과, 참당귀 추출물 7일째는 부동 시간에 대한 효과는 대조군보다 유의적인 차이는 없었으나 투여 14일째 강제수영부하시험에서는 참당귀 투여군 농도에 따라 부동 시간이 감소함을 확인하였다(Fig. 1). 특히 중간농도와 고농도인 100 mg/kg 및 200 mg/kg 투여군에서 유의적인 효과를 확인하였다. 강제수영부하시험 동물실험 모델에서 참당귀 투여로 부동 시간이 감소된다는 것은 수영 유지를 위한 체력 및 지구력이 증진된 것으로 따라서 참당귀 추출물이 체력증진 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

참당귀 추출물의 피로관련 생화학적 지표물질에 대한 효과

일반적으로 강제부하수영시험을 실시하면 피로와 관련된 여러 가지 혈중 생화학적 지표물질의 농도가 변화하게 된다(Mashiko *et al.*, 2004). BUN은 신장기능을 나타내는 지표로 강제부하수영시험 후 신기능이 저하되면서 BUN 수치는 증가하는 경향이 있는 것으로 알려져 있다(Nakagawasai *et al.*, 2001). LDH 및 CK는 근육 피로도를 나타내는 지표로 강제부하수영시험 후 증가하는 경향이 있다(Coombes and McNaughton, 2000). 본 연구에서는 참당귀 추출물의 체력증진 및 피로 개선 효과를 측정하기 위하여 강제부하수영시험 후에 마우스 혈액을 채취하여 다양한 생화학적 지표물질의 변화를 측정하였다. 실험 결과, 대조군의 BUN 수준은 20.01 ± 0.41 mg/dL이고, 참당귀 투여군에서는 19.29 ± 0.77 mg/dL (50 mg/kg), 18.08 ± 0.88 mg/dL (100 mg/kg), 18.22 ± 0.39 mg/dL (200 mg/kg)로 변화함을 확인하였다(Fig. 2). 이는 참당귀 추출물이 신장기능 향상에 효과적임을 시사하고 있다. LDH 효소 활성도는 대조군의 615.04

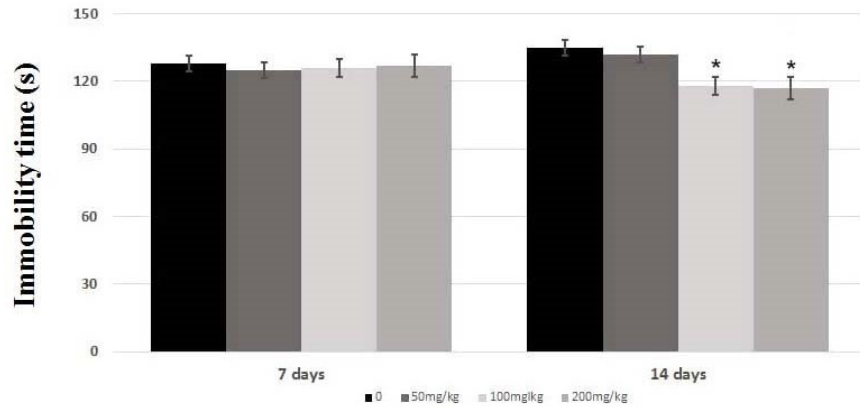


Fig. 1. Effect of AGN on forced swimming-induced immobility in mice. AGN (50, 100, 200 mg/kg/day) or saline (control group) were orally administered for 14 days and immobility time was measured after 7 and 14 day's (n=7) administration. Data were represented in the mean \pm S.D. and results were analyzed by Tukey post hoc test (* $P < 0.05$ versus control).

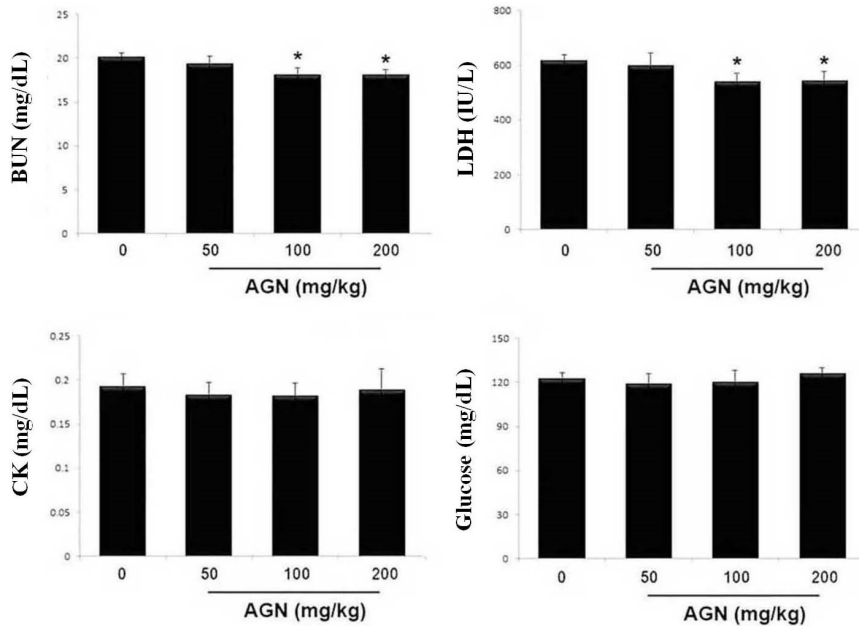


Fig. 2. Effect of AGN on forced swimming-induced biochemical parameters change in mice. AGN (50, 100, 200 mg/kg/day) or saline (control group) were orally administered for 14 days and the levels of BUN, CK, LDH and Glucose in serum were measured by the autoanalyzer. Data were represented in the mean \pm S.D. and results were analyzed by Tukey post hoc test (* $P < 0.05$ versus control).

± 24.66 IU/L에 비해 참당귀 투여군에서는 597.12 ± 47.02 IU/L (50 mg/kg), 535.15 ± 31.22 IU/L (100 mg/kg), 540.67 ± 35.92 IU/L (200 mg/kg)로 나타났다. 이는 참당귀 투여는 LDH의 조절 효과가 있음을 시사한다.

그러나 Glucose, CK 수준은 대조군에 비해 참당귀 투여군에서 큰 변화가 없음을 확인하였다. 따라서 참당귀 추출물은 BUN 및 LDH 생화학 인자를 조절하면서 피로 개선 효능을 나타냈다.

결론적으로 강제수영부하실험에서 참당귀 추출물의 경구투여는 부동시간을 감소시킴으로써 체력증진 효과를 나타내는 것으로 사료된다. 신장기능 지표인 BUN 및 근육의 피로관련 생화학적 지표인 LDH 활성도는 강제수영부하실험 이후 증가하였고 참당귀 투여로 감소됨을 확인하였다. 이는 약용식물인 참당귀 추출물의 체력증진 및 피로회복 기능성 소재로 활용 가능성을 제시하였다.

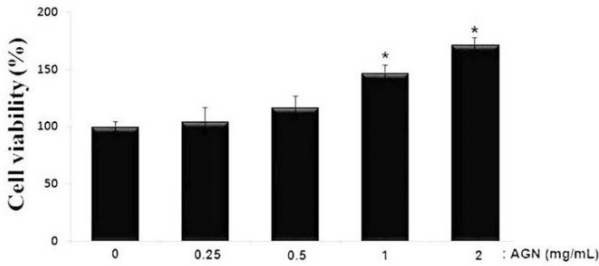


Fig. 3. Effect of AGN on cell viability in molt-4 cells. Cells (3×10^5 cells/well) were treated with various concentration of AGN (0.25, 0.5, 1, 2 mg/mL) for 24 h and cell viability was measured using the MTT assay. The values are represented as the mean \pm S.D. of independent experiments (* $P < 0.05$ vs. control).

T 세포 증식에 대한 참당귀 추출물의 효과

참당귀 추출물의 T 세포의 증식에 미치는 영향을 알아보기 위해 MTT 시험법을 수행하였다. 인간 T 세포주인 Molt-4 세포에 다양한 농도의 참당귀 추출물을 (0.25, 0.5, 1, 2 mg/mL)을 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 세포 증식능을 측정하기 위하여 MTT 시험법을 수행하였다. 그 결과 참당귀 추출물의 농도가 증가할수록 T 세포 증식률이 증가하였으며, 특히 1 mg/mL와 2 mg/mL 농도에서 유의성 있는 효과를 나타냈다(Fig. 3).

IL-2, IL-4 및 IFN- γ mRNA 생성에 대한 참당귀 추출물의 효과

IL-2, IL-4 및 IFN- γ mRNA 발현에 대한 참당귀 추출물의 효과를 측정하기 위하여 qRT-PCR을 수행하였다. Molt-4 세포에 다양한 농도(0.25, 0.5, 1, 2 mg/mL)의 참당귀 추출물을 처리하고 12시간 배양 후 mRNA 발현을 확인하였다. 이때, mRNA 발현량을 비교하기 위하여 housekeeping gene인 GAPDH를 positive control로 사용하였다. Fig. 4에 나타난 결과와 같이 참당귀 추출물을 처리한 군에서 IL-2, IL-4 및 IFN- γ mRNA 발현량이 증가함을 확인하였고 특히 고농도의 참당귀 추출물 처리군에서 유의적으로 증가함을 확인하였다. IL-2 mRNA 발현량의 경우, 참당귀 추출물 1 mg/mL 처리한 군에서는 1.29 ± 0.099 ng/mL, 2 mg/mL 처리한 군에서는 1.72 ± 0.10 ng/mL로 대조군 (1.0 ± 0.20 ng/mL)과 비교하여 유의적으로 증가하였다. IL-4 mRNA 발현량의 경우, 참당귀 추출물 1 mg/mL 처리한 군에서는 1.38 ± 0.091 ng/mL, 2 mg/mL 처리한 군에서는 1.45 ± 0.08 ng/mL로 대조군(1.0 ± 0.18 ng/mL)과 비교하여 유의적으로 증가하였다. IFN- γ mRNA 발현량의 경우, 참당귀 추출물

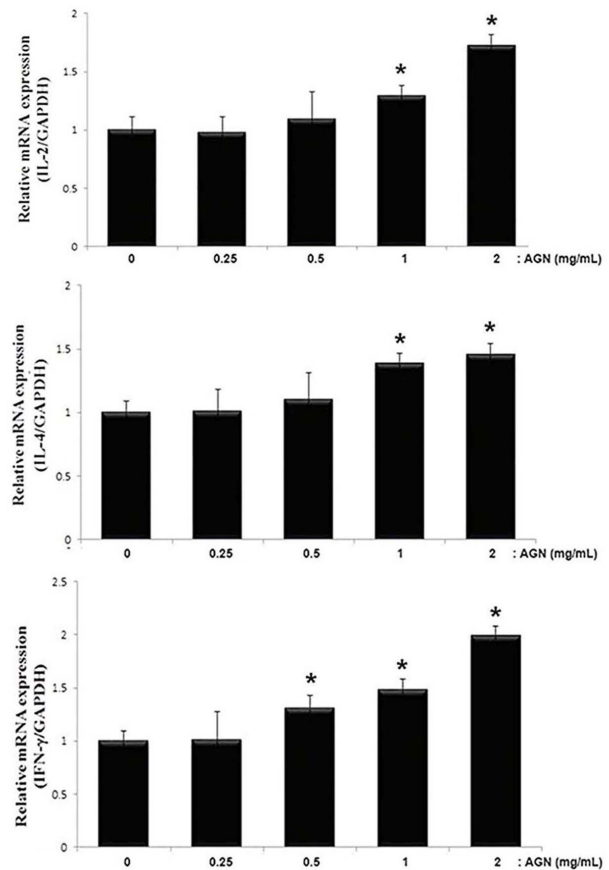


Fig. 4. Effect of AGN on IL-2, IL-4 및 IFN- γ mRNA levels in molt-4 cells. Cells (1×10^6 cells/well) were treated with various concentration of AGN (0.25, 0.5, 1, 2 mg/mL) for 12 h and IL-2, IL-4 및 IFN- γ mRNA levels was measured using qRT-PCR assay. The values are represented as the mean \pm S.D. of independent experiments (* $P < 0.05$ vs. control).

1 mg/mL 처리한 군에서는 1.30 ± 0.10 ng/mL, 2 mg/mL 처리한 군에서는 2.05 ± 0.09 ng/mL로 대조군(1.0 ± 0.19 ng/mL)과 비교하여 증가하였다. 이 결과로부터 참당귀 추출물은 IL-2, IL-4 및 IFN- γ 세포 활성물질의 생성 조절을 통하여 면역조절 효능이 있음이 판단된다. 본 연구결과를 통해 규명된 결과는 참당귀 추출물의 체력증진 및 면역조절을 위한 건강 기능성 제품 개발에 활용 가능성을 제시하였다.

적 요

본 연구에서는 다양한 실험모델을 활용하여 참당귀 추출물의 면역조절 효능을 평가하였다. 특히 강제수영부하실험에서 참당귀 추출물의 경구투여는 부동시간의 감소 및 신장기능 지

표인 BUN 및 근육의 피로관련 생화학적 지표인 LDH 활성 조절로 체력증진 효과를 나타내는 것으로 확인하였다. T세포를 활용한 참당귀 추출물의 면역조절 효능 평가를 위하여 IL-2, IL-4 및 IFN- γ mRNA 발현 변화에 대한 영향을 측정하였다. 실험결과, 참당귀 추출물은 IL-2, IL-4 및 IFN- γ 세포 활성물질의 생성 조절을 통하여 면역조절 효능이 있음을 확인하였다. 본 연구결과를 통해 규명된 결과는 참당귀 추출물의 체력증진 및 면역조절을 위한 건강 기능성 제품개발에 활용 가능성을 제시하였다.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Basha, S., N. Surendran and M. Pichichero. 2014. Immune responses in neonates. *Exp. Rev. Clin. Immunol.* 10:1171-1184.
- Coombes, J.S. and L.R. McNaughton. 2000. Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 40:40-46.
- De-Mello, M.A. 1994. Effect of exercise during pregnancy and dam age on maternal blood chemistry and fetal growth. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 27:2461-2466.
- Dominika, L., M.Ö. Celik, V. Seitz and H. Machelska. 2021. Interleukin-4 Induces the Release of Opioid Peptides from M1 Macrophages in Pathological Pain. *J. Neurosci.* 41: 2870-2882.
- Jeon, Y.D., S.H. Lee and S.J. Kim. 2021. *Undaria pinnatifida* inhibits the mast cell-mediated inflammatory response via NF-kB/Caspase-1 suppression. *Korean J. Plant Res.* 34:503-509.
- Kim, E.Y., I.H. Baik, J.H. Kim, S.R. Kim and M.R. Rhyu. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36:333-338.
- Kim, K.M., J.Y. Jung, S.W. Hwang, M.J. Kim and J.S. Kang. 2009. Isolation and purification of decursin and decursinol angelate in *Angelica gigas* Nakai. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38:653-656.
- Kumar, S.K. and B.V. Bhat. 2016. Distinct mechanisms of the newborn innate immunity. *Immunol. Lett.* 173:42-54.
- Mashiko, T., T. Umeda, S. Nakaji and K. Sugawara. 2004. Effects of exercise on the physical condition of collegeregus by players during summer training camp. *Br. J. Sports Med.* 2:186-190.
- Moro, K., T. Yamada, M. Tanabe, T. Takeuchi, T. Ikawa and H. Kawamoto. 2010. Innate production of T(H)2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit(+)/Sca-1(+) lymphoid cells. *Nature* 463:540-544.
- Nakagawasai, O., T. Tadano, S. Hozumi, R. Taniguchi, K. Tanno, A. Esashi, F. Nijima and K. Kisara. 2001. Characteristics of depressive behavior induced by feeding thiamine-deficient diet in mice. *Life Sci.* 10:1181-1191.
- Nathaniel, D., P. George and R. Weinkove. 2020. Chimeric antigen receptor T-cell therapies: optimising the dose. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 86:1678-1689.
- Oh, S.H., Y.S. Cha and D.S. Choi. 1999. Effects of *Angelica gigas* Nakai diet on lipid metabolism, alcohol metabolism and liver function of rats administered with chronic ethanol. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 42:29-33.
- Ozturk, N., K. Husnu Can Baser, S. Aydin, Y. Ozturk and I. Calis. 2002. Effects of *Gentiana lutea* ssp *symphyandra* on the central nervous system in mice. *Phytother. Res.* 7:627-631.
- Park, K.W., S.R. Choi, M.E. Shon, I.Y. Jeong, K.S. Kang, S.T. Lee, K.H. Shim and K.I. Seo. 2007. Cytotoxic effects of decursin from *Angelica gigas* Nakai in human cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36:1385-1390.
- Porsolt, R.D., A. Bertin and M. Jalfre. 1977. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 229:327-336.
- Shin, H.Y., H.J., Jeong, H.J., An, S.H., Hong, J.Y., Um, T.Y., Shin, S.J., Kwon, B.I., Seo, S.S., Shin, D.C Yang and H.M. Kim. 2006. The effect of *Panax ginseng* on forced immobility time & immune function in mice. *Indian. J. Med. Res.* 124: 199-206.

(Received 8 February 2022 ; Revised 17 May 2022 ; Accepted 17 May 2022)