

## 인삼 석유에텔 추출물이 흰쥐에서 Benzo(a)pyrene에 의해 유도된 소핵생성의 억제효과

최성규 · 김천호\* · 허문영\*\*

동아제약주식회사 중앙연구소

\*강원대학교 축산대학, \*\*강원대학교 약학대학

(Received September 27, 1991)

## Suppressive effect of Petroleum Ether Extract of *Panax ginseng* against Benzo(a)pyrene induced Micronuclei in Mice

Sung Gyu Choi, Cheon Ho Kim\* and Moon Young Heo\*

Reserch Lab. Dong-A Pharm. Co., Ltd. Kiheung-Up, Kyunggi-Do 449-900, Korea

\*College of Animal Agriculture, Kangweon National University, Chuncheon 200-701, Korea

\*\*College of Pharmacy, Kangweon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**Abstract**—Petroleum ether extracts of *panax ginseng* C.A. Meyer (GPEE) were tested for the evaluation of anticlastogenic effects against benzo(a)pyrene-induced micronucleated polychromatic erythrocytes using mouse bone marrow micronucleus test. When the GPEE was singly administered before benzo(a)pyrene injection, GPEE showed significant anticlastogenic effect at 50~200 mg/kg. When the GPEE was multiply administered for 5 consecutive days before benzo(a)pyrene injection, GPEE showed potent anticlastogenic effect, even at the low doses, 5~50 mg/kg/day. As a control experiment, GPEE was administered without benzo(a)pyrene injection to demonstrate a clastogenic effect of this extract. When the range of 1~200 mg/kg/day for 5 consecutive days was administered to mice, it was found that there was no increase of MNPCEs frequency.

**Keywords** □ *Panax ginseng* C.A. Meyer, petroleum ether extract, benzo(a)pyrene, micronucleus test, anticlastogenic effect.

최근 암의 치료제 개발과 함께 암의 예방요법제 창출에 많은 연구가 진행되고 있다.<sup>1-5)</sup> 특히 들연변이와 같은 유전독성과 암의 유발에 억제적인 작용을 하는 식물성 생리활성 물질이 밝혀지고 있는데, chlorophyll, vitamin A, polyphenols, sulfahydril compounds 등이 대표적인 예들이다.<sup>6)</sup> 이같은 물질들은 암의 initiation, promotion 및 progression 단계에서 세포내 대사의 modulation, DNA 반응성 물질의 blocking, DNA 복제나 DNA 수복조절 등의 기전으로 각종 유전독성에 대한 억제작용을 나타낸다고 보여지고 있다.<sup>7)</sup>

우리나라를 비롯한 동양에서 각종 질병의 치료와 예방에 사용되어지고 있는 인삼(*Panax ginseng* C.A.

Meyer)에 대하여 최근 방사선 보호작용,<sup>8,9)</sup> 세포독작용,<sup>10,11)</sup> 항암작용<sup>12,13)</sup> 등이 보고되고 있다. 특히 이 추출물이 *in vitro*에서 murine leukemia L5178Y, murine sarcoma 180, Hela cell, L1210 cell 및 인체 암세포의 증식을 억제하였고, 암세포의 DNA, RNA, protein 합성을 억제한다고 알려져 있다.<sup>14-16)</sup> 또한 이러한 세포독성을 나타내는 물질들이 인삼 석유에텔 분획중 polyacetylene 화합물로 단리 동정되어 있다.<sup>17,18)</sup> 이에 이같은 생리작용이 밝혀지고 있는 인삼의 석유에텔 추출물에 대하여 마우스 소핵시험을 이용하여 염색체 손상작용(clastogenicity) 및 염색체 손상 억제작용(anticlastogenicity)를 연구하였기에 이에 보고하는 바이다.

## 실험방법

**실험재료**—본 실험에 사용한 재료는 금산산 인삼(4년근, 50 pcs/300g)을 분말로 하여 사용하였으며, 그 일정량을 취하여 Soxhlet 장치를 사용하여 24시간 추출 후 감압농축하여 석유에텔 추출물을 시료로 사용하였다.

**시약**—fetal calf serum을 GIBCO사, colchicine은 Fluka, Giemsa staining solution(Gurr®66)은 BDH사에서 구입하였다. 또한 benzo(a)pyrene 등은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

**실험동물**—강원대학교 약학대학 동물사육실에서 사육된 6주 정도의 ICR male mouse(20~25g)를 사용하였다. 사료는 삼양유지사료(주)의 마우스용 배합사료(조단백질 22.1%, 조지방 3.5%, 조섬유 5.0%, 회분 8.0%, 칼슘 0.6%, 인 0.4%)를 사용하였고, 물과 사료는 자유롭게 먹게하였다. 또한 12시간 간격으로 dark-light cycle을 조절하였다.

**소핵시험**—마우스를 급사시켜 도살한 후 Schmid의 방법<sup>19)</sup>에 따라 골수 도말 표본을 만든다. 이 실험방법의 개요는 ICR 마우스의 대퇴골로부터 0.2 ml fetal calf serum을 이용하여 골수 세포를 미세원심분리관에 채취하고, 1,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후 상등액을 버린다. Pellet을 다시 소량의 fetal calf serum으로 현탁시킨 후, 세포 현탁액 소량을 슬라이드 상에 도말하고, 24시간 실온에서 풍건한다. 그 후 건조된 슬라이드는 메탄올로 고정하고, 5% Giemsa solution(pH 6.8, Sørensen buffer)로 30분간 염색한다. 증류수로 세척한 후 현미경으로 관찰(1000X)하여, mouse 한 마리당 1000개의 다염성적혈구(polychromatic erythrocyte : PCE) 중 소핵을 가진 소핵 다염성 적혈구(micronucleated polychromatic erythrocyte : MNPCE)의 생성빈도(%)를 구한다. 한편, 각 실험군당 마우스 3마리를 사용하여 총 3,000개의 PCE를 세었고, 유의성 검정은 Student 't'-test로 하였다.

**검체 투여방법**—benzo(a)pyrene을 dimethyl sulfoxide에 용해 150 mg/kg되게 조제하여 마우스 한 마리당 0.1 ml(25g 기준)를 복강투여하였다. 복강투여 후 0, 2, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 72시간에 각각 도살한 후, benzo(a)pyrene에 의해 소핵이 가장 높게 유발되는 최대 소핵생성빈도 발현시간을 결정하였으

며, 동일한 방법으로 석유에텔 추출물을 corn oil에 용해한 후 100 mg/kg으로 경구투여하여 인삼 석유에텔 추출물에 의한 시간별 소핵생성빈도를 관찰하였다. 한편 benzo(a)pyrene을 25, 50, 100, 150, 200 mg/kg되게 조제하여 복강투여하고, 상기 시험에서 관찰된 최대 소핵생성빈도 발현시간인 36시간 후에 각각 도살하여 benzo(a)pyrene의 용량반응관계를 실험하였다.

한편 single 투여시 pretreatment되는 인삼 석유에텔 추출물의 최적 전투여시간을 결정하기 위하여 benzo(a)pyrene 투여 -2, -6, -12, -18, -24, -30, -36, -48, -72시간에 인삼 석유에텔 추출물(100 mg/kg, P.O.)을 각각 single로 경구투여 하였으며, 그후 benzo(a)pyrene (150 mg/kg, I.P.)을 투여하고, 36시간 폭로 후 도살, 소핵실험을 하여 최적 전투여시간을 결정하였으며, 이 최적시간에 인삼 석유에텔 추출물을 3, 5, 7, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 500 mg/kg씩 single로 각각 경구투여하여 소핵생성 억제효과와 용량과의 관계를 관찰하였다. 또 benzo(a)pyrene에 대한 인삼 석유에텔 추출물의 multiple 투여시 소핵생성억제효과를 알기 위하여 인삼 석유에텔 추출물을 5일간 1일 1회 용량 1, 3, 5, 7, 10, 25, 50, 100, 150, 200 mg/kg을 경구투여하여, 최종 투여 12시간 후에 benzo(a)pyrene (150 mg/kg, I.P.)을 투여하여 36시간 후 도살, 소핵실험을 실시하여 5일간 multiple 투여에 따른 인삼 석유에텔 추출물의 benzo(a)pyrene 유발 소핵생성빈도에 대한 억제효과를 관찰하였다. 또 인삼 석유에텔 추출물의 5일간 연속투여시 소핵생성빈도를 알기 위하여 인삼 석유에텔 추출물을 상기와 같은 방법으로 1, 10, 25, 50, 100, 200 mg/kg 경구투여한 후 최종 48시간 후에 도살하여 인삼 석유에텔 추출물 자체의 소핵생성빈도를 관찰하였다.

## 실험결과

**인삼 석유에텔 추출물과 benzo(a)pyrene의 소핵생성**—benzo(a)pyrene (150 mg/kg, I.P.)을 투여 후 0, 2, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 72시간에 따른 소핵생성빈도는 Fig. 1에 나타내었다. benzo(a)pyrene은 투여 후 36시간에서 가장 높은 소핵생성빈도를 나타내었으며, 투여 후 72시간 까지도 1% 이상의 높은 빈도를 나타내었다.

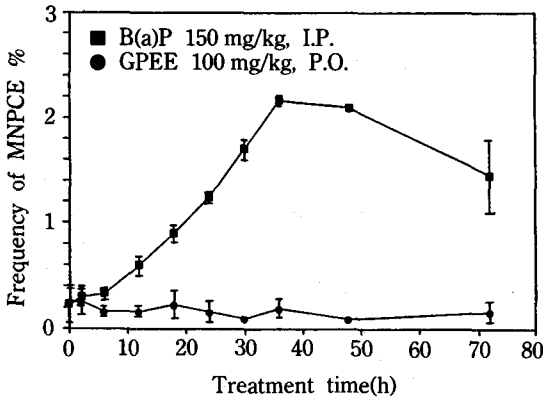


Fig. 1—Variations in the frequency of MNPCEs in mouse bone marrow cell after 150 mg/kg benzo(a)pyrene or 100 mg/kg ginseng pet. ether ext.

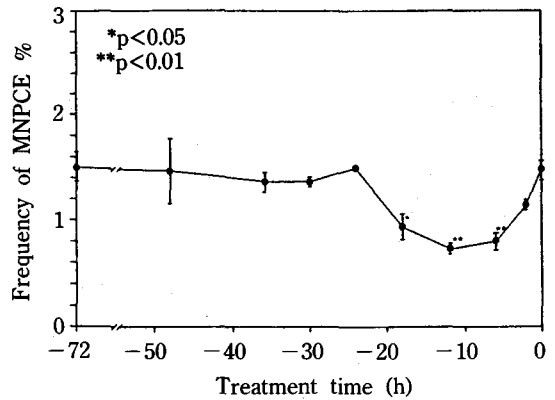


Fig. 3—Suppression of benzo(a)pyrene-induced MNPCEs by ginseng pet. ether ext. (100 mg/kg, P. O.) at various times before benzo(a)pyrene injection.(150 mg/kg, I.P.)

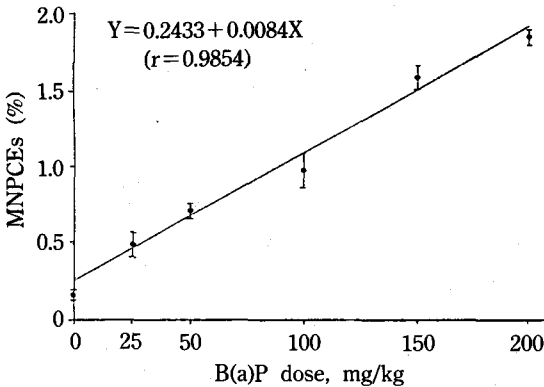


Fig. 2—Effects of benzo(a)pyrene concentration on MNPCE in mouse bone marrow cells. Mice were sacrificed after 36 hrs of benzo(a)pyrene injection. Data points and bars represent mean±SD of three mice per group.

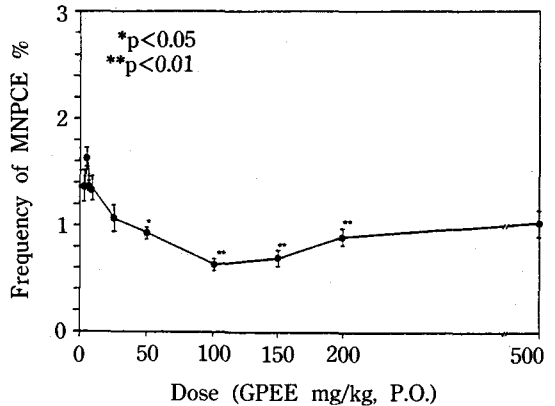


Fig. 4—Suppression of benzo(a)pyrene-induced MNPCEs by various single doses of ginseng pet. ether ext. before benzo(a)pyrene injection(150 mg/kg, I.P.).

한편, 인삼 석유에텔 추출물(100 mg/kg, P.O.)을 상기 실험과 동일하게 실시하였을 때, 전투여시간에 걸쳐 소핵생성빈도의 증가를 전혀 나타내지 않았다 (Fig. 1). 또 상기 실험으로부터 36시간으로 결정된 benzo(a)pyrene 최적 투여시간에 있어서 benzo(a)pyrene의 용량별 투여에 따른 소핵생성빈도에 대한 용량반응관계 곡선은  $y=0.2433+0.0084x$  ( $r=0.9854$ )로서 benzo(a)pyrene와 소핵생성빈도 간에는 양호한 용량반응관계를 나타내었다(Fig. 2).

**Single 투여시 인삼 석유에텔 추출물의 소핵생성 억제효과**—인삼 석유에텔 추출물의 single 투여시 최

적 pretreatment 시간을 파악하기 위하여, benzo(a)pyrene과 동시투여 및 benzo(a)pyrene 투여 -2, -6, -12, -18, -24, -30, -36, -48, -72시간에 인삼 석유에텔을 각각 투여하였다. 이 때의 소핵생성빈도의 억제효과를 Fig. 3에 나타내었다. 실험결과, 인삼 석유에텔 추출물과 benzo(a)pyrene의 동시투여 시 또는 24시간 전에 투여했을 때는 거의 소핵생성 억제효과가 나타나지 않았으나, benzo(a)pyrene 투여 -6, -12, -18시간에 인삼 석유에텔 추출물을 투여했을 때 유의성있게 소핵생성을 억제하였으며 각각의 억제율은 42.9, 47.6, 33.3%였다. 따라서 single

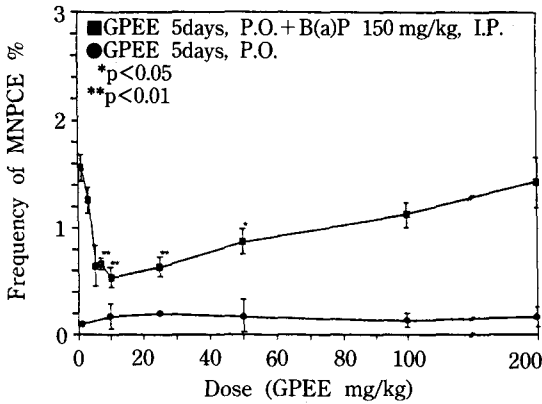


Fig. 5—Suppression of benzo(a)pyrene-induced MNPCEs by various multiple doses of ginseng pet. ether ext. before benzo(a)pyrene injection(150 mg/kg, I.P.).

투여시 최적 pretreatment 시간을 benzo(a)pyrene 투여 전 12시간으로 설정한 후, 인삼 petroleum ether 추출물을 각각 3, 5, 7, 10, 25, 50, 100, 200, 500 mg/kg 경구투여시 소핵생성 억제효과를 관찰하였을 때 그 결과는 Fig. 4와 같았다. 유의성있는 소핵생성 억제효과를 나타낸 용량은 single 투여시 50, 100, 150, 200 mg/kg 투여시였으며, 억제율은 각각 33.3, 54.7, 50.0, 35.7%로서, benzo(a)pyrene 투여 전 12시간에 100 mg/kg을 single pretreatment시에 가장 높은 억제효과를 나타내었다.

**Multiple 투여에 의한 인삼의 석유에텔 추출물의 소핵생성 억제효과**—인삼 석유에텔 추출물을 5일간 1일 1회 각각 1, 3, 5, 7, 10, 25, 50, 100, 200 mg/kg을 경구투여한 다음 최종투여 후 12시간에 benzo(a)pyrene을 150 mg/kg I.P. 투여한 다음 36시간 후의 소핵생성 억제효과를 Fig. 5에 나타내었다. 유의성있는 억제효과는 경구투여용량 5, 7, 10, 25, 50 mg/kg을 5일간 연속투여하였을 때 나타났다. 이때의 억제효과는 54.7, 52.4, 61.9, 54.8, 38.1%로서 benzo(a)pyrene 투여 전 5일간 1일 1회 10 mg/kg을 multiple treatment 하였을 때 가장 높은 억제효과를 나타내었다.

한편, 인삼 석유에텔 추출물 자체의 소핵생성빈도를 관찰하기 위하여 상기 시험과 동일하게 5일간 1일 1회, 1, 10, 25, 50, 100, 200 mg/kg을 각각 투여하였을 때 소핵생성빈도는 Fig. 5와 같이 대조군과 마찬가지로 거의 나타나지 않았기 때문에, 이 추출물 자체의

유전독성은 없는 것으로 판단되었다.

고 찰

인삼 석유에텔 추출물을 경구적으로 투여하였을 때 투여 후 72시간까지 소핵생성빈도의 증가는 나타나지 않았다. 또한 5일간 연속 1일 1회 1~200 mg/kg까지 투여하였을 때에도 대조군과 비교하여 전혀 소핵생성빈도의 증가는 나타나지 않았다. 이는 인삼 석유에텔 추출물이 투여된 용량에서 전혀 소핵생성빈도에 영향을 미치지 않는 것으로 보아 자체 유전독성은 없는 것으로 판단되었다. 그러나 강력한 변이원성 물질이며 발암물질인 benzo(a)pyrene은 투여시간이 증가함에 따라 소핵생성도 증가하여 36시간에 가장 높은 소핵생성빈도를 나타내었으며, 이는 Kleish의 보고<sup>20)</sup>와도 유사하였다. 골수세포의 다염성적혈구 (polychromatic erythrocyte)에 잔존하는 소핵(micronuclei)은 골수세포의 유사분열과정에서 일어난 염색체 손상(chromosome damage)에서 기인하는 것으로서, 소핵실험은 유전독성을 평가하는 cytogenetic assay로서 매우 유용하게 쓰여지고 있다.<sup>21)</sup> 본 연구에 사용한 양성발암물질인 benzo(a)pyrene은 투여 36시간 후 소핵실험을 실시하였을 때 200 mg/kg 이하에서 매우 양호한 용량-반응곡선을 나타내었다.

또한 인삼 석유에텔 추출물의 benzo(a)pyrene 유도 소핵생성빈도에 미치는 억제효과를 single 투여와 multiple 투여로 나누어 관찰하였다. 먼저 single 투여를 위한 최적 pretreatment의 조건을 설정하기 위하여 benzo(a)pyrene 투여 2시간 전부터 72시간 전까지 각각 시간별로 투여하였다. 이때 benzo(a)pyrene 투여 12시간 전에 인삼 석유에텔 추출물을 투여하였을 때가 가장 억제효과가 컸다. 이는 인삼 석유에텔 추출물이 경구로 투여, 흡수된 후 골수에 까지 도달하여 benzo(a)pyrene metabolite와의 직접적인 반응 또는 체내 대사에 관여하는 효소활성의 modulation에 영향을 주기 위한 최적 시간으로 판단되었다.

이에 따라 benzo(a)pyrene 투여 전 12시간에 인삼 석유에텔 추출물을 500 mg/kg까지 투여하였을 때 나타난 소핵생성 억제효과는 50~200 mg/kg 사이에서 유의성이 있었고, 특히 100 mg/kg 투여에 있어서는 54.7%의 억제효과를 나타내었다. 한편 인삼 석유에텔 추출물의 연용효과를 보기 위하여 5일간 1일 1회 연

속투여 후 benzo(a)pyrene을 투여하여 소핵생성빈도의 억제효과를 single pretreatment 군과 비교해 보았을 때 저용량에서 높은 억제효과를 나타내었다. single 투여시 100 mg/kg에서 가장 높은 억제효과를 나타낸 반면, multiple 투여시 10 mg/kg에서 61.9%의 억제효과를 나타내었다. 따라서 이러한 실험결과들은 인삼 석유에텔 추출액을 소량씩 연용하였을 때 benzo(a)pyrene 같은 강력한 발암물질의 유전독성을 억제할 수 있다는 점을 시사해 준다.

benzo(a)pyrene같은 발암성 다환방향족 탄화수소들은 cytochrome P-450-dependent MFO에 의해 반응성이 높은 epoxide로 대사되어 돌연변이나 발암작용을 나타내게 된다. 이러한 benzo(a)pyrene의 변이원성에 대한 억제효과는 첨가된 물질에 의한 상경적 억제에 기인한 활성화의 변화, 4,5-oxide와 같은 major primary mutagenic metabolite와 이보다 5배 이상 변이원성이 강한 7,8-diol-9,10 epoxide같은 2차 대사산물들의 양적변화들에 의한 것이라고 알려져 있다.<sup>22-24)</sup>

benzo(a)pyrene의 유전독성을 억제시키는 물질로 알려진 것은 retinol,<sup>25)</sup> disulfiram,<sup>25)</sup> BHA와 BHT<sup>25,26)</sup>를 비롯하여 최근에 식용색소 erythrosin이 benzo(a)pyrene과 투여되었을 때 야기되는 DNA damage와 DNA repair에 영향을 미친다고 알려져 있다.<sup>27)</sup> 또한 sod. selenite<sup>28,29)</sup>와 thiol류<sup>30)</sup>도 억제작용을 나타내고 GSH는 CHO cell에서 benzo(a)pyrene에 의해 유도된 gene mutation의 억제에 효과적이며,<sup>31)</sup> 그러나 retinol은 SCE와 chromosome aberration에는 억제효과가 없다고 보고된 바 있다.<sup>31)</sup>

한편 curcumin이나 ellagic acid와 같은 천연유래 페놀성물질들이 Ames test에서 benzo(a)pyrene 유도 변이원성을 억제시켰으며,<sup>32,33)</sup> 특히 ellagic acid는 [<sup>3</sup>HBaP와 DNA의 반응을 *in vitro*에서 억제시켰다고 보고된 바 있다.<sup>34)</sup> 그러나 이상과 같은 연구결과들은 대부분 *in vitro* 수준이나 또는 prokaryotic system에서 실험된 것으로서 *in vivo* 수준에서 benzo(a)pyrene 유도 유전독성에 대한 억제효과 연구에는 드물다. 심 등<sup>35)</sup>에 의하면 *in vivo* micronucleus test를 이용하여 고려인삼(홍삼 엑기스: 증류수)를 3일 동안 7번 연속투여한 결과 cyclophosphamide에 대하여 소핵생성빈도를 58% 억제하였으나 urethane과 ethylmethane sulfonate에 대해서는 유의성 있는 억제효

과를 나타내지 않았다고 보고한 바 있으며, 본 연구에서는 인삼 석유에텔 추출물이 single pretreatment 및 저용량의 multiple pretreatment에서 모두 benzo(a)pyrene 유도 소핵생성에 대해 매우 높은 억제효과를 나타내는 것으로 볼 때, 이 추출물은 각종 흡연, 대기오염, 식품오염물, 환경발암인자에 노출되어 살아가는 사람들에게 유전독성의 protective factor로서 응용 가능하다고 생각된다. 심<sup>36)</sup>의 연구에서 인삼 석유에텔 추출물에서 단리된 polyacetylene 화합물은 주로 *in vitro* 수준에서 암세포에 세포독성을 갖고 있는 것으로 알려져 있는데, 본 실험에서 사용한 인삼 석유에텔 추출물은 기존 세포독성을 갖는 물질들이 갖는 소핵생성을 전혀 나타내지 않는 것으로 보아 추출물과 단리된 polyacetylene 성분의 작용은 다른 것으로 판단된다. 따라서 인삼 석유에텔 분획의 세분화 및 이들의 활성 점정과 작용기전, 연구를 통하여 보다 깊이있는 연구가 요망된다.

## 결 론

Mouse bone marrow micronucleus test를 이용하여 benzo(a)pyrene에 유도된 다염성 적혈구 중 소핵생성빈도를 관찰하여 인삼 석유에텔 추출물의 억제효과를 연구한 결과, 인삼 석유에텔 추출물은 그 자체로는 single 투여 또는 5일간 1일 1회 연속투여시 대조군에 비하여 전혀 소핵생성 증가를 나타내지 않았으며, benzo(a)pyrene에 의해 유도된 소핵생성빈도에 대해서는 single 투여시 50~200 mg/kg, multiple 투여시 single 투여시 보다 낮은 5~50 mg/kg에서 유의성있는 억제효과를 나타내었다.

## 문 헌

- 1) Ishii, R., Yoshikawa, H., Minakawa, H., Komura, N. and Kada, T.: Specificity of bio-antimutagens in the plant kingdom. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 2587 (1984).
- 2) Shankel, D.M., Hartman, P.E., Kada, T. and Hol-laender, A.: *Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanisms*. Plenum Press, New York, pp.1 (1986).
- 3) Wall, M.E., Wani, M.C., Hughes, T.J. and Taylor, H.: Plant antimutagenic agents. 1. General bioas-

- say and isolation procedure. *J. Nat. Prod.* **51**, 866 (1988).
- 4) Wall, M.E., Wani, M.C., Manicumer, G., Abraham, P., Taylor, H., Hughes, T., Warner, J. and McGivny, R.: Plant antimutagenic agents. 2. Flavonoids. *J. Nat. Prod.* **51**, 1084(1988).
  - 5) Wall, M.E., Wani, M.C., Manikumar, G., Hughes, T.J., Taylor, H., McGivney, R. and Warner, J.: Plant antimutagenic agents. 3. Coumarins. *J. Nat. Prod.* **51**, 1148(1988).
  - 6) Kuroda, Y.: Antimutagenesis studies in Japan, Antimutagenesis and Anticarcinogenesis mechanism II. *Basic life science* **52**, 1(1990).
  - 7) Flora, S. and Ramel, C.: Mechanisms of inhibitor of mutagenesis and carcinogenesis. classification and overview. *Mutation Res.* **202**, 285(1988).
  - 8) Zhang, J.S., Sigdestad, C.P., Gemmell, M.A. and Gradina, D.J.: Modification of radiation response in mice by fractionated extracts *Panax ginseng*. *Radiation Research* **112**, 156(1987).
  - 9) Kim, C.M.: Effect of radioprotection ginseng protein fraction on sister chromatid exchange, Proc. 2nd Int. Sym. on Recent Advances in Natural Products Research. 251(1989).
  - 10) Hwang, W.I., Park, K.H. and Paik, J.M.: A cytotoxic activity of *panax ginseng* extract against some cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Korean J. Ginseng Sci.* **11**, 173(1987).
  - 11) Kitagawa, I.: Chemical studies on crude drug processing red ginseng and white ginseng. *Proc. 4th Int. Ginseng Symp.* 159(1984).
  - 12) Yun, T.K., Yun, Y.S. and Han, I.W.: Study of tumor inhibitory effect of red ginseng in mice and rat epoxide to various chemical carcinogens. *Proc. 3rd Int. Ginseng Symp.* 87(1980).
  - 13) Odashima, S., Ohta, T., Kohno, H., Matsuda, T., Kitagawa, I., Abe, H. and Arichi, S.: Control of phenotypic expression of cultured B16 melanoma cells by plant glycosides. *Cancer Research.* **45**, 2781 (1985).
  - 14) Hwang, W.I. and Cha, S.M.: A cytotoxic activity at extract of *panax ginseng* root against some cancer cells *in vitro* and *in vivo*, *Proc International ginseng symposium*. Seoul, Korea, 43(1978).
  - 15) Yeon, Y.S., Lee, S.Y., Kim, B.S. and Yun, T.K.: The studies on the mechanism of action of the cytotoxic fraction from korean ginseng roots. *Kordan Biochem. J.* **13**, 203(1980).
  - 16) Hwang, W.I. and Oh, S.K.: A study on the anticancer activities of lipid soluble ginseng extract and ginseng saponin derivatives against some cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.* **82**, 153(1984).
  - 17) Shim, S.C. and Koh, H.Y.: Polyacetylene compounds from *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Bulletin of Korean Chemical Society* **4**, 183(1983).
  - 18) Kim, S.I., Lee, Y.H. and Kang, K.S.: 10-Acetylpanaxtriol, a new cytotoxicity polyacetylene from *Panax ginseng*. *Yakhak Hoeji*, **33**, 118(1989).
  - 19) Schmid, W.: The micronucleus test, *Mutation Res.* **31**, 9(1975).
  - 20) Kleich, U., Roupova, I. and Adler, I.D.: Induction of chromosome damage in mouse bone marrow by benzo(a)pyrene. *Mutation Res.* **102**, 265(1982).
  - 21) Hagashi, M., Sofuni, T. and Ishidate Jr. M.: A pilot experiment for the micronucleus test. *Mutation Res.* **141**, 165(1984).
  - 22) Wislocki, P.G., Wood, A.W., Chang, R.L., Levin, W., Yagi, H., Herendaz, H., Jerina, D.M. and Conney, A.H.: High mutagenicity and toxicity of a diol epoxide derved from benzo(a)pyrene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **68**, 1006(1976).
  - 23) Malaveille, C., Kuroki, T., Sims, P., Grover, P.L. and Bartsh, H.: Mutagenicity of isomeric diol-epoxides of benzo(a)pyrene and benzo(a)anthracene in *S. typhimurium* TA98 and TA100 and in V79 Chinese hamster cells. *Mutation Res.* **44**, 313(1977).
  - 24) Wood, A.W., Chang, R.L., Levin, W., Yagi, H., Thakker, D.R., Jernia, D.M. and Conney, A.H.: Differences in mutagenicity of the optical enantiomers of the diastereomeric benzo(a)pyrene 7,8-diol-9,10-epoxides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **77**, 1389 (1977).
  - 25) Shin, T.W. and Hill, D.L.: Selective inhibition and kinetics of enzymatic reactions leading to irreversible binding of benzo(a)pyrene to microsomal macromolecules of mouse lung. *Cancer Biochem. Biophys.*, **2**, 55(1977).

- 26) Yang, C.S., Strickhart, F.S. and Woo, G.K.: Inhibition of the monooxygenase by BHA and BHT. *Life Sci.* **15**, 1497(1974).
- 27) Lakdawalla, A.A. and Netrawali, M.S.: Mutagenicity, comutagenicity and antimutagenicity of erythrosine(FD and C Red 3'), a food dye, in the Ames/Salmonella assay. *Mutation Res.* **204**, 131 (1988).
- 28) Teel, R.W. and Kain, S.R.: Selenium modified mutagenicity and metabolism of benzo(a)pyrene in an S9-dependent system. *Mutation Res.* **127**, (1984).
- 29) Calle, L.M. and Sullivan, P.D.: Screening of antioxidants and other compounds for antimutagenic properties towards benzo(a)pyrene-induced mutagenicity in strain TA98 of *Salmonella typhimurium*. *Mutation Res.* **101**, 99(1982).
- 30) Recio, L. and Hsie, A.W.: Modulation of the cytotoxicity and mutagenicity of benzo(a)pyrene and benzo(a)pyrene 7,8-diol by glutathione and glutathione S-transferase in mammalian cells (CHO/HGPRT assay). *Mutation Res.* **178**, 257(1987).
- 31) Qin, S., Batt, T. and Huang, C.C.: Influence of retinol on carcinogen-induced sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in V79 cells. *Environ. Mutagen.* **7**, 137(1985).
- 32) Nagabhushan, M., Amonkar, A.J. and Bhide, S.V.: *in vitro* antimutagenicity of curcumin against environmental mutagens. *Food Chem. Toxicol.* **25**, 545 (1987).
- 33) Terwel, L. and Van der Hoeven, J.C.M.: Antimutagenic activity of some naturally occurring compounds towards cigarette-smoke condensate and benzo(a)pyrene in the Salmonella/microsome assay. *Mutation Res.* **152**, 1(1985).
- 34) Dixit, R., Teel, R.W., Daniel, F.B. and Stroner, G. D.: Inhibition of benzo(a)pyrene-trans-7,8-diol metabolism and DNA binding in mouse lung explants by ellagic acid. *Cancer Res.* **45**, 2951(1985).
- 35) 심점순, 김용화, 노정구 : 고려 인삼의 *in vivo* clastogenicity 억제작용, *Environmental mutagens and carcinogens* **8**, 135(1989).
- 36) Shim, S.C.: Polyacetylene compounds from korean ginseng: isolation, characterization, synthesis and cytotoxicity, Proc. 2nd Int. Sym. on Recent Advance in Natural Products Reserch. 70(1989).