

## 에틸카바메이트 대사산물에 의해 유발된 마우스 피부 종양에 대한 홍삼의 억제효과

박광균<sup>1,\*</sup> · 오상환<sup>2</sup> · 정원윤<sup>1</sup>

<sup>1</sup>연세대학교 치과대학 구강생물학교실 및 구강종양연구소  
<sup>2</sup>의과대학 생화학분자생물학교실

### Inhibitory Effects of Red Ginseng on Skin Tumor Formation Induced by Ethyl Carbamate Metabolites

Kwang-Kyun Park<sup>1,\*</sup>, Sang-Hwan Oh<sup>2</sup> and Won-Yoon Chung<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Oral Biology and Oral Cancer Research Institute, College of Dentistry,

<sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Medicine,  
Yonsei University, Seoul, 120-752, Korea

(Received September 8, 1999)

(Accepted January 14, 2000)

**ABSTRACT** : Ginseng (the root of *Panax ginseng* C. A. Meyer, Araliaceae) has been used for traditional medicine in China, Korea, Japan and other Asian countries. It is most often used as a general tonic, and it involves a wide range of pharmacological actions, such as antiaging, adaptogen-like effect to foreign deleterious infringement, immunoenhancement, antistress, antitumor, and antioxidant actions. Red ginseng showed anticarcinogenic activity against various chemical carcinogens in mouse and cancer-preventive effect on human being as on mice in experimental and epidemiological studies. In the present study, we have found the protective properties of red ginseng against vinyl carbamate (VC) which is the proximate carcinogen of ethyl carbamate and its ultimate carcinogenic epoxides. Red ginseng exhibited dose-dependent inhibition on the mutagenic activities of both VC in the presence of S9 mix and vinyl carbamate epoxide (VCO) without metabolic activation in *Salmonella typhimurium* TA1535. Formation of DNA adducts from VCO was also attenuated in the presence of red ginseng. Oral administration of red ginseng prior to the topical application of each of the above carcinogens and TPA treatment resulted in significant reduction in both incidence and multiplicity of skin tumors in mice. These results indicate that red ginseng possesses a strong chemopreventive effect against mouse skin carcinogenesis induced by VC or VCO.

**Key Words** : Vinyl carbamate, Vinyl carbamate epoxide, Red ginseng, Antimutagenic activity, Anticarcinogenic activity, DNA adduct

### I. 서 론

암(cancer)은 전세계적으로 약 700만 명 이상의 사망 원인이 되는 질환으로, 암 발생률과 그로 인한 사망률은 연간 계속 증가하여 2000년 초에는 제 1의 사망원인이 될 것으로 추정된다(American Cancer Society, 1997). 암의 치료에는 화학 요법, 방사선 요법, 외과적 수술 등이 널리 사용되고 있으나 쉽게 완치되지 않으며 치료 요법 자체로 인한 부작용도 빈번한 실정이다. 이에 따라 모든 다른 질병에서와 마찬가지로 암에 있어서도 질병의 치료보다 예방으로 그 해결점을 찾으려는 시도로써 최근 화학적 암

예방(cancer chemoprevention)이 많이 연구되고 있다(Wattenberg, 1978; Greenwald 등, 1990; Sporn, 1991). 화학적 암예방이란 1) 비세포독성 영양물질(non-cytotoxic nutrients)이나 약물을 사용하여 암세포의 돌연변이 클론(mutant clone)의 생성이나 진행을 방지함으로써 암 발생 과정을 역행하거나 진행을 억제하는 것(Sporn, 1976), 2) 자연 혹은 합성 화합물을 이용하여 전암단계(preneoplastic stage)에서 발암과정을 차단하여 악성종양으로의 진행을 막는 것(Greenwald, 1996), 3) 약품이나 음식의 구성 성분의 형태로 하나 혹은 그 이상의 화합물질을 섭취함으로써 암을 예방하는 것(Morse 등, 1993) 등으로 정의되고 있다. 최근 과일이나 녹황색 채소와 같은 식물에서 암 발생을 억제할 수 있는 물질이 많이 발견되었으며(Morita 등, 1978;

\*To whom correspondence should be addressed

Bhattachaya 등, 1987; Robinson과 Nelson, 1989), 이들 중 독성이 낮고 발암 억제효과가 뛰어난 몇몇 물질에 대하여 임상시험을 실시하고 있다(Kelloff 등, 1996).

한국의 전통적인 생약인 인삼(*Panax ginseng*, C. A. Meyer)은 주로 강장제로 사용되었으며 고혈압 및 당뇨병의 치료제로 사용되기도 한다(오 등, 1968; 박과 김, 1974; 박과 정, 1977; Massey, 1977). 또한 노화억제(Sugaya 등, 1988), 면역증진(Deng 등, 1989), 스트레스억제(Bhattacharya 등, 1991), 항암(Abe 등, 1979; Sato 등, 1994), 항산화(Deng 등, 1990; Deng 등, 1991; Sohn 등, 1993; Zhang 등, 1996) 등의 다양한 약리작용이 알려져 있다. *Panax ginseng* C. A. Meyer는 공정방법에 따라 수삼, 백삼, 홍삼으로 분류되는데 특히 홍삼의 화학적 암예방 효과에 대하여 많은 연구가 진행되었다. Yun 등은 여러 종류의 화학 발암물질에 의해 유발된 마우스 폐 종양에 대한 홍삼 추출물의 암발생억제효과(anticarcinogenic effect)를 보고하였으며(Yun 등, 1980; 1983; 1987; 1995; Yun과 Kim, 1988; Yun, 1992), 마우스에서와 같이 사람에서도 홍삼의 섭취가 암의 발생을 억제한다는 결과를 관찰하였다(Yun과 Choi, 1990; 1995a; 1995b).

본 실험에서는 발효식품 속에 함유된 ethyl carbamate (urethane)의 대사 활성물질인 vinyl carbamate(VC)와 최종 발암물질인 vinyl carbamate epoxide(VCO) (Fig. 1)로 각각 유발한 마우스 피부종양 생성이 홍삼정분에 의해 억제되는지 조사하였으며, 돌연변이성 및 DNA adduct 형성에 대한 억제효과도 같이 조사하였다.

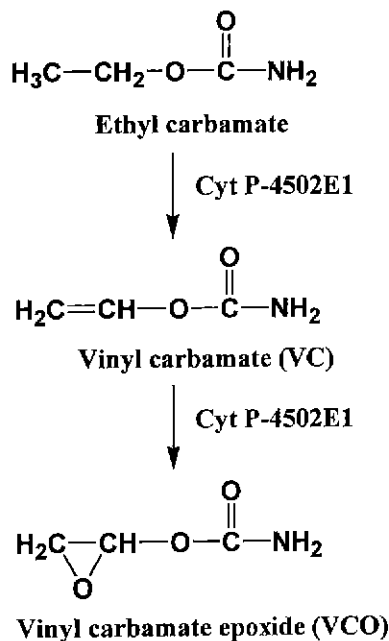


Fig. 1. Possible metabolic pathway of ethyl carbamate (urethane).

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 기기

실험에 사용한 vinyl carbamate, vinyl carbamate epoxide, 7-(2'-oxoethyl)guanine(OEG), *N*<sup>2</sup>,3-ethenoguanine(EG)은 다음과 같이 합성하여 사용하였다. VC는 Dahl 등의 방법(Dahl 등, 1980)으로 vinyl chloroformate와 100% ammonia gas를 이용하여 합성한 후 무수 ethyl ether로 재결정하였다.

VCO 합성에 필요한 dimethyldioxirane(DMDO)은 OXONE®(Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI)과 아세톤을 이용하여 Adam 등의 방법으로 합성한 다음(Adam 등, 1987), 0.1 M의 DMDO-아세톤 용액에 Molecular sieve 4A를 가하여 물을 제거하고 저온실에서 진탕하여 여과한 후 사용하였다. VCO는 Park 등의 방법으로 합성하였다(Park 등, 1993). 즉, DMDO와 VC를 동량으로 섞고 실온에서 무색이 될 때까지 반응시킨 후, 진공펌프를 이용하여 완전히 건조하였다. 합성한 VCO는 소량으로 분주하여 -70°C 냉동고에 보관하였으며 사용하고 남은 것은 물에 녹여 폐기하였다.

발암물질로부터 형성될 수 있는 DNA adduct(Fig. 2)인 OEG와 EG를 합성하여 DNA adduct 정량시 표준물질로 사용하였다. OEG는 Park 등의 방법으로 합성하였다(Park 등, 1993). 즉, 빙초산에 guanosine과 glycidol(2,3-epoxypropanol)을 가하여 반응시켜 7-(2',3'-dihydroxypropyl)guanosinium acetate를 얻고 이것을 산성 상태에서 sodium periodate로 산화시켜 OEG의 hydroxide form을 합성하여 사용하였다. EG는 Oesch와 Doerjter의 방법으로 guanine과 chloroacetaldehyde로부터 합성하였다(Oesch와 Doerjter, 1982). 합성한 화합물들은 원소분석, NMR, Mass spectroscopy를 이용하여 순도를 확인한 후 실험에 사용하였다.

실험에 사용된 홍삼정분은 한국인삼연구초연구소로부터

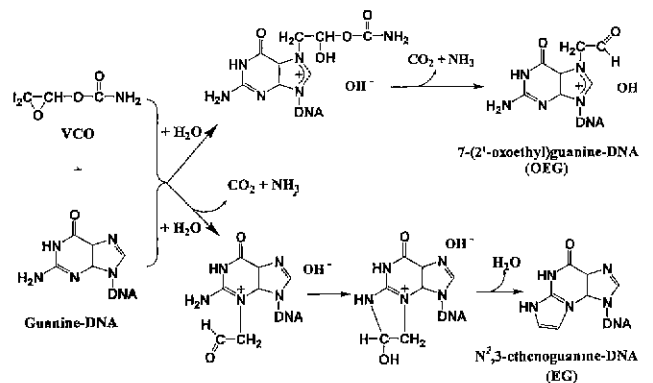


Fig. 2. Possible reactions of VCO with DNA to form base adducts.

공급받아 사용하였다.

High performance liquid chromatography(HPLC)는 U6K injector, solvent programmer, solvent delivery system (Waters, USA)과 fluorometric detector(Kratos, Schoeffel Division, Westwood, NJ)가 달린 chromatography system 을 사용하였으며, Chromegabond reverse-phase strong cation exchange(RP-SCX) column(5 µm particle size, 4.6 mm×250 mm, ES Industries, Marlton, NJ)과 RP-18 precolumn(7 µm particle size, 3.2 mm×15 mm, BrownLee Labs, Santa Clara, CA)을 사용하였다.

## 2. 실험동물

연세의료원 임상의학연구센터 실험동물부에서 근교배 번식 사육한 6주령 자성 ICR 마우스를 사용하였다. 마우스에는 표준 고형사료를 공급하였으며 급수는 자유롭게 하였고 실험 전기간 동안 항온, 항습으로 유지하였다.

## 3. 돌연변이 실험

*Salmonella typhimurium* TA1535 균주를 사용하여 VC 와 VCO에 의한 돌연변이성에 대한 홍삼정분의 억제효과를 Ames 등의 방법으로 조사하였다(Ames 등, 1975). VC 의 경우에 NADPH generating system(NADP, glucose 6-phosphate, glucose 6-phosphate dehydrogenase)과 에탄올 을 처리한 ICR 마우스 간장으로로부터 분리된 postmitochondrial fraction(S-9)을 첨가하였으며 VCO의 경우에는 S-9을 첨가하지 않고, 홍삼정분을 가하거나 가하지 않은 상태에서 생성되는 histidine positive revertants의 수를 세었다.

## 4. DNA adduct 형성량 측정

Calf thymus DNA(2 mg)와 VCO(5 mg)에 홍삼정분(20 mg)을 넣거나 넣지 않은 상태에서 최종 부피가 2 ml가 되도록 하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. Sodium acetate 를 3%가 되도록 가하고 2배 부피의 차가운 에탄올, 75% 에탄올, 에탄올, 아세톤 순으로 세척한 후, 마지막에 에틸 아세테이트로 세척하였다. 건조시킨 DNA를 15 mM NaCl-1.5 mM sodium citrate 완충용액(pH 7.0)에 녹이고 260 nm에서 UV 흡광도를 측정하여 정량한 후, 1/10 부피의 1 M HCl 용액을 가하여 37°C에서 18시간 동안 산가수분해하였다. HPLC를 사용하여 Fedtke 등의 방법으로 기수분해 산물의 OEG와 EG를 정량하였다(Fedtke 등, 1989). 이때 10% 아세트나이트릴이 함유된 ammonium formate 완충용액, pH 2.8을 사용하여 flow rate는 0.5 ml/min으로

하였고 255 nm excitation wavelength와 345 nm emission cut-off filter를 사용하였다.

## 5. 피부 종양 생성 조사

실험군당 ICR 마우스 30마리씩을 사용하여 아무것도 처리하지 않은 대조군, 홍삼정분 처리군, VC 처리군, VCO 처리군, VC와 홍삼정분 처리군, VCO와 홍삼정분 처리군으로 구분하여 실험하였다. 마우스 등의 털을 깎고 발암제를 바르기 하루 전에 0.2 ml 아세톤 용액에 녹인 15 nmol 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA)를 발타 주고, 발암제로 5.8 µmol의 VC 또는 VCO를 DMSO-아세톤 용액(15:85), 0.2 ml에 녹여 마우스 등에 도포하였다. 발암제를 도포한 일주일 후부터 일주일에 두 번씩 TPA 용액을 14주 동안 국소도포하였다. 홍삼 정분은 발암제 처치 하루 전과 10분 전에 생리식염수 1 ml에 5 mg의 홍삼정분을 녹여 위장관 투여(0.5 ml/10 g body weight) 하였으며, 이후에는 3 mg/ml(되게) 급수에 용해하여 매일 투여하였다.

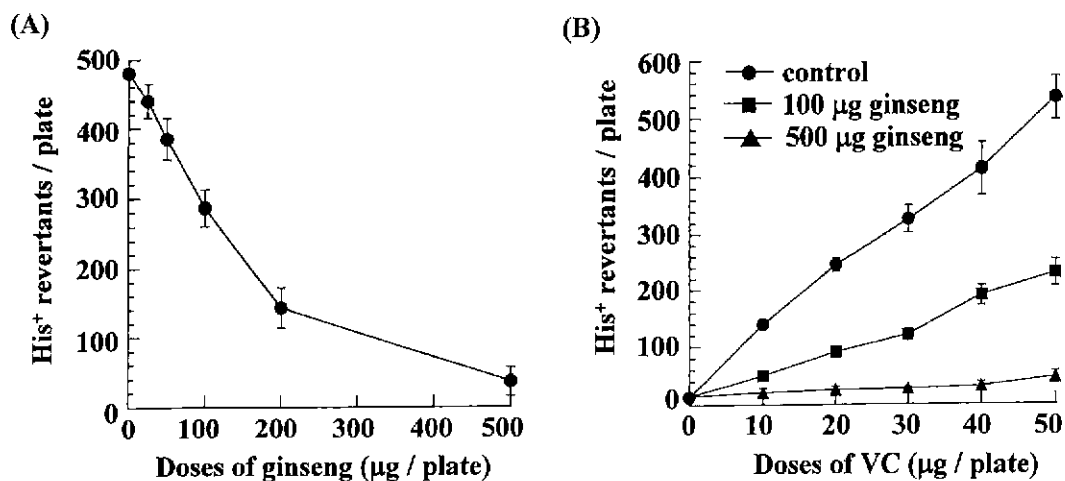
## III. 결 과

### 1. 홍삼정분의 돌연변이 억제효과

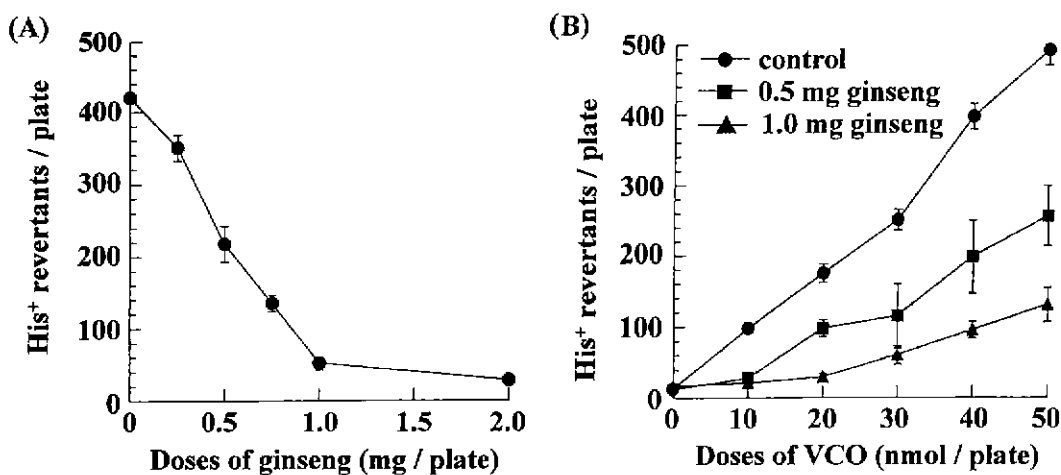
*Salmonella typhimurium* TA1535 균주를 사용하여 S-9 으로 처리한 VC나 처리하지 않은 VCO로 각각 유발한 돌연변이성에 대한 홍삼정분의 억제효과를 조사하였다. VC(50 µg/plate)로 유발한 돌연변이성이 홍삼정분의 용량에 의존적으로 억제되었으며(Fig. 3A), 500 µg의 홍삼정분으로 처리시 VC의 농도를 10~50 µg까지 변화시키면서 유발한 돌연변이가 거의 완전히 억제되었다(Fig. 3B). VC의 최종대사산물인 VCO(5 µg/plate)에 의한 돌연변이성도 홍삼정분에 의해 용량의존적으로 억제되었으며(Fig. 4A), VCO의 농도를 10~50 nmol(1.03~5.15 µg/plate)로 변화시키면서 유발한 돌연변이가 500 µg 및 1000 µg의 홍삼정분에 의해 현저히 억제되는 것을 관찰하였다(Fig. 4B).

### 2. 홍삼정분의 DNA adduct 형성 억제효과

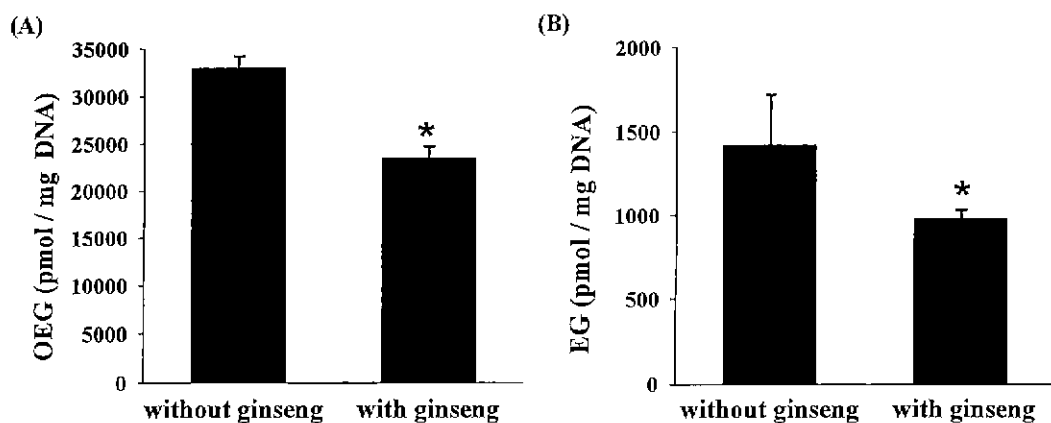
DNA adduct를 형성하도록 시험관 내에서 VCO와 DNA를 반응시킨 후, 산으로 처리하여 기수분해하였다. 산 기수분해산물을 HPLC로 분리한 후, 형광분석으로 정량한 결과 guanine adduct인 OEG와 EG가 형성되었음을 확인하였다. 형성된 adduct의 대부분은 OEG였으며 EG는 5% 이하로 생성되었다. DNA adduct 형성시 홍삼정분을 가한 경우 홍삼정분에 의하여 OEG 생성은 25.4% 억제되었으며, EG의 생성은 28.5% 억제되었다(Fig. 5).



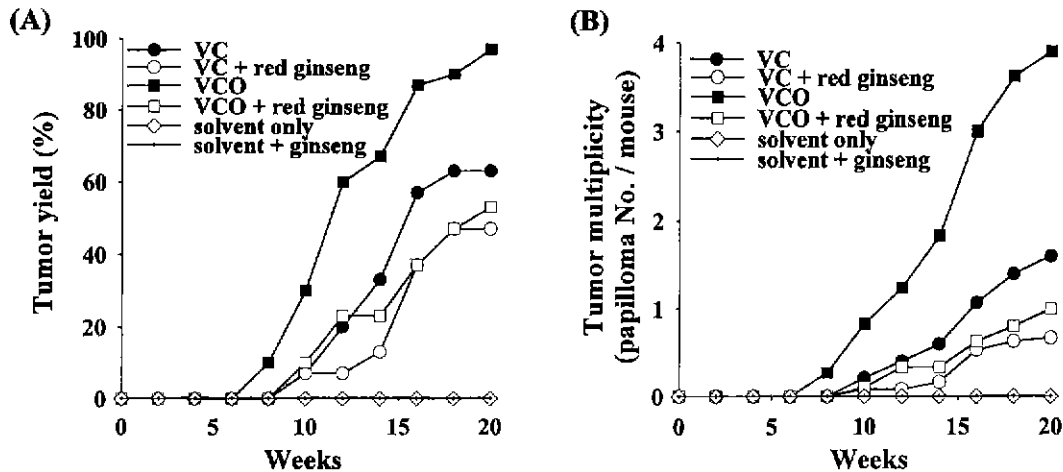
**Fig. 3.** Inhibition of mutagenicities of VC by red ginseng. (A) Indicated doses of red ginseng were tested for protective effects on mutagenesis induced by various doses of VC in the presence of S9. (B) The dose response curve with regard to red ginseng were obtained with 50 µg of VC.  $P < 0.005$ .



**Fig. 4.** Inhibition of mutagenicities of vinyl carbamate epoxide (VCO) by red ginseng. (A) Indicated doses of red ginseng were tested for protective effects on mutagenesis induced by various doses of VCO without S9. (B) The dose response curve with regard to red ginseng were obtained with 5 µg of VCO.  $P < 0.005$ .



**Fig. 5.** Inhibition of red ginseng on DNA adducts, OEG and EG formation. VCO was incubated with calf thymus DNA in the absence and presence of red ginseng. \* $P < 0.05$  (by Student's t-test)



**Fig. 6.** Protective effects of red ginseng on mouse skin tumorigenesis by VC and VCO. Female ICR mice (6 weeks old, 30 per group) were administered red ginseng (0.5 ml/10 g body weight, 5 mg red ginseng/ml) or vehicle by gavage a day and 10 min prior to a single topical application of 5.8  $\mu$ mol of each carcinogen in 0.2 ml of 15% DMSO in acetone or the same volume of the solvent. One week later, 15 nmol TPA in 0.2 ml/acetone was applied topically twice weekly for 20 weeks. Red ginseng was supplied with water for 20 weeks. (A) Tumor yield (percentage of mice with skin tumors), (B) Tumor multiplicity (average numbers of skin tumors per mouse) Skin tumors of diameter >1 mm were counted and recorded every 2 weeks. \* $P < 0.05$  (by Student's t-test)

### 3. 홍삼정분의 발암성 억제효과

VC나 VCO를 ICR 마우스 피부에 국소도포하여 피부종양을 유발하는 과정에서 홍삼정분을 투여하였을 때, 홍삼정분에 의해 종양형성이 예방되거나 억제되는지를 조사하였다. 발암제를 국소도포하기 하루 전과 10분 전에 위장관 투여를 하고, TPA를 국소도포하는 20주 동안 음용수로 홍삼정분을 마우스에 공급하면서 종양발생율(tumor yield; 실험에 사용된 동물 중 종양이 발생된 동물의 %)와 종양생성율(tumor multiplicity; 실험동물당 생성된 종양 수의 평균값)를 측정하여 Fig. 6의 결과를 얻었다. 실험 20주에서 VCO를 국소도포한 실험군에서 실험동물당 평균 3.9개의 유두종양이 생성되었으며 실험동물의 97%에서 종양이 발생되었으나 홍삼정분을 투여한 실험군에서는 실험동물당 평균 1.0개의 유두종양이 관찰되었고 실험동물의 53%에서 유두종양이 관찰되었다. 또한 VCO의 전단계 물질인 VC를 국소도포한 실험군에서는 실험 20주에서 실험동물당 평균 1.6개의 유두종양과 실험군의 63%에서 유두종양이 관찰된 반면, 홍삼정분을 투여한 군에서는 평균 0.67개의 유두종양과 실험군의 47%에서 종양이 관찰되었다. 이들 결과로부터 홍삼정분이 VC 또는 VCO로 유발한 마우스 피부종양의 발생을 현저히 억제하는 것을 알 수 있었다.

## IV. 고 찰

홍삼은 urethane, 9,10-dimethyl-1,2-benz[*a*]anthracene (DMBA), *N*-2-fluorenylacetylamide, aflatoxine B<sub>1</sub>, 담배 연기 농축물과 같은 화학물질에 의한 마우스 종양의 발생을

억제하거나 지연시키며(Yun 등, 1980; 1983; 1987; Yun과 Kim, 1988; Yun, 1992; 1996). DMBA와 croton oil을 사용한 다단계 암발생도 억제시키는 것으로 알려져 있다(Xiaoguang 등, 1998). 뿐만 아니라 역학조사 결과 인삼을 복용하는 사람에서는 거의 모든 부위에서 암발생율이 낮게 나타났다(Yun과 Choi, 1990; 1995a; 1995b). 이와 같이 홍삼이 암예방에 뛰어난 효과가 있는 것으로 조사되었음에도 불구하고 아직 암예방효과를 나타내는 활성성분이나 기전은 잘 알려져 있지 않다.

Ethyl carbamate는 많은 발효식품이나 음료에서 발견되는 발암물질(Zimmerli and Schlatter, 1991)로서 설치류의 여러 장기에 종양을 유발한다(Nettleship 등, 1943; IARC, 1974). 대부분 microsomal esterases나 amidases에 의해 에탄올, 암모니아, 이산화탄소로 가수분해되지만(Mirvish, 1968; Park 등, 1993), 일부는 cytochrome P450 2E1에 의해 VC로 산화되고 다시 최종 발암물질인 VCO로 epoxidation된다(Miller와 Miller, 1983; Guengerich 등, 1991a; 1991b)(Fig. 1). 앞선 연구에서 ethyl carbamate의 중간 대사물질인 VC와 최종 대사산물인 VCO가 *Salmonella typhimurium* TA1535 균주에서 돌연변이를 유발하였으며 VCO가 더 강력한 돌연변이 활성을 나타내는 것을 관찰하였다(Park 등, 1993; 1995). 또한 최종 대사물질인 VCO는 전구물질보다 훨씬 더 독성이 강한 발암물질로서, 마우스 피부에 도포하였을 때 VC 보다 더 높은 양의 epidermal DNA adducts를 형성하며 보다 광범위하게 유두종양을 생성하였다(Park 등, 1993; 1995).

본 연구에서는 VC와 VCO로 *Salmonella typhimurium* TA1535 균주에 유발한 돌연변이에 대한 홍삼정분의 억제

효과를 조사하여 VC와 VCO의 돌연변이 활성이 홍삼정분에 의해 용량 의존적으로 억제되는 것을 관찰하였다. S-9으로 처리한 50 µg의 VC에 의한 돌연변이성이 500 µg의 홍삼정분에 의해 완전히 억제된 반면, 최종 발암물질인 VCO, 5 µg으로 유도한 돌연변이성은 2 mg의 홍삼정분에 의해 완전히 억제되었다. S-9을 첨가한 VC의 경우, 홍삼정분이 cytochrome P450 2E1에 의해 VC가 VCO로 대사 활성화되는 것을 억제하였거나 해독작용 효소의 활성화로 극히 일부의 VCO만이 작용하였기 때문으로 생각된다. 홍삼 saponin이 CCl<sub>4</sub>로 유도한 cytochrome P450 2E1의 활성을 용량 의존적으로 억제한다는 것이 Kim 등에 의해 보고되어 있다(Kim 등, 1997).

많은 종류의 돌연변이물질이나 발암물질이 직접 또는 대사활성화 과정을 거쳐 반응성이 강한 발암물질로 바뀐 후 세포 내 DNA와 반응하여 DNA adduct를 형성하며, 형성된 DNA adduct로 인해 DNA 복제과정 동안 돌연변이가 일어나는 것으로 알려져 있다(Garner, 1998). DNA adduct 형성은 암발생과정의 초기단계에서 관찰되는 중요한 지표로서 DNA adduct 양을 조사함으로써 발암물질에 대한 노출정도 뿐만 아니라 암 발생의 위험도를 알 수 있다(Otteneider과 Lutz, 1999). 따라서 발암물질과 DNA간에 adduct가 형성되는 것을 억제한다면 암발생을 억제할 수 있을 것으로 생각하여 많은 연구들이 진행되었다(Tadi 등, 1991; Izzotti 등, 1992; Balansky 등, 1996; Offord, 등 1997; Kim 등, 1999).

본 연구에서 시험관내에서 DNA를 VCO로 처리한 결과 OEG가 주요 adduct로 생성되었으며 EG는 5% 이하로 생성되었다. 홍삼정분으로 처리시 OEG 생성은 25.4% 억제되었으며, EG의 생성은 28.5% 억제되었다. OEG는 돌연변이를 일으킬 수 있는 부위를 guanine 보다 더 쉽게 만들기는 하지만 DNA 전사시 miscoding하는 능력은 거의 없는 것으로 알려져 있다(Barbin과 Laib, 1985; Loeb, 1985). 반면에 EG는 강력하게 miscoding을 일으키는 adduct로 알려져 있다(Singer 등, 1987; 1991; Cheng 등, 1991). 홍삼정분은 VCO에 의해 형성된 DNA adduct 중 OEG 뿐만 아니라 DNA 전사시 miscoding을 유발하는 EG의 형성을 억제함으로써 유전자내 돌연변이를 억제하는 것으로 생각된다.

VC나 VCO를 마우스 피부에 국소도포하고 20주 동안 TPA로 처리하였을 때, VC를 처리한 군보다 VCO를 처리한 군에서 종양발생율과 종양생성율이 훨씬 더 높게 나타났다. 그러나 발암물질을 처리하기 전과 TPA를 처리하는 동안 홍삼정분을 투여한 군에서는 종양발생율과 종양생성율이 모두 현저히 억제되었다.

이상의 결과로부터, 홍삼정분은 VC가 최종 발암물질인 VCO로 활성화되는 것을 억제하고, VCO와 DNA의

adduct 형성을 억제함으로써 발암물질인 VC와 VCO에 대해서 뛰어난 암예방효과를 나타내는 것을 확인하였다. 그러나 홍삼의 암예방 기전이나 암예방효과를 나타내는 활성 성분에 대해서는 명확히 알려져 있지 않은 만큼 이에 대한 많은 연구들이 진행되어야 할 것으로 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 1994년도 한국담배인삼공사에서 시행한 출연 연구사업의 연구결과로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 박찬웅, 김명석 (1974): 인삼 saponin이 백서 부석환 지방조직에서의 유리지방산 동원에 미치는 효과, 대한약리학회지, **10**, 41-45
- 박찬웅, 정홍근 (1977): 인삼의 지질대사에 관한 연구. 인삼 장기 투여가 닭의 지질대사에 미치는 영향, 서울의대잡지, **18**, 57-61.
- 오진섭, 임정규, 박찬웅, 한미자 (1968): 인삼이 고혈압에 미치는 영향, 대한약리학회지, **4**, 17-26.
- Abe, H., Arichi, S., Hayashi, T. and Odashima, S. (1979): Ultrastructural studies of Morris hepatoma cells reversely transformed by gmsenosides, *Experientia*, **35**, 1647-1649.
- Adam, W., Chan, Y.Y., Cremer, D., Gauss, J., Scheutzw, J. and Schindler, M. (1987): Spectral properties of dimethyldioxirane as determined by experiments and ab initio calculation. *J. Org. Chem.*, **52**, 2800-2803.
- American Cancer Society, *Cancer Facts & Figures-1997*.
- Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E. (1975): Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella typhimurium*/mammalian-microsomal mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **31**, 347-363.
- Balansky, R., Izzotti, A., Scatolini, L., D'Agostini, F. and De Flora, S. (1996): Induction by carcinogens and chemoprevention by *N*-acetylcysteine of adducts to mitochondrial DNA in rat organs. *Cancer Res.*, **56**, 1642-1647.
- Barbin, A. and Laib, R.J. (1985): Lack of miscoding properties of 7-(2'-oxoethyl)guanine, the major vinyl chloride DNA adduct, *Cancer Res.*, **45**, 2440-2444.
- Bhattacharya, R.K., Francis, A.R. and Shetty, T.K. (1987): Modifying role of dietary factors on the mutagenicity of aflatoxin B<sub>1</sub>: *in vitro* effect of vitamins, *Mutat. Res.*, **188**, 121-128.
- Bhattacharya, S.K. and Mitra, S.M. (1991): Anxiolytic activity of Panax ginseng roots: An experimental study. *J. Ethnopharmacol.*, **34**, 87-92.
- Cheng, K.C., Preston, B.D., Cahill, D.S., Dosanjh, M.K., Singer, B. and Loeb, L.A. (1991): The vinyl chloride

- DNA derivative  $N^2,3$ -ethenoguanosine produces G - A transitions in *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 9974-9978.
- Deng, H.L., Zhang, J.T. and Huang, Y.S. (1989): Study on anti-lipid peroxidative effect of ginsenoside Rb1 and Rg1, *Acte Chinese Medical Academy*, **2**, 157-158.
- Deng, H.L., Guan, Y.Y. and Kwan, C.Y. (1990): Effects of ginseng saponins on lipid peroxidation in liver and cardiac muscle homogenates. *Biochem. Arch.*, **6**, 359-365.
- Deng, H.L. and Zhang, J.T (1991): Anti-lipid peroxidative effect of ginsenoside Rb1 and Rg1, *Chin. Med. J. Engl.*, **104**, 395-398.
- Fedtke, N., Walker, V.E. and Swenberg, J.A. (1989): Determination of 7-(2'-oxoethyl)guanine and  $N^2,3$ -ethenoguanine in DNA hydrolysates by HPLC, *Arch. Toxicol. Suppl.*, **13**, 214-218.
- Garner, R.C. (1998): The role of DNA adducts in chemical carcinogenesis. *Mutat. Res.*, **402**, 67-75.
- Greenwald, P (1996): Chemoprevention of cancer. *Sci. Am.*, **275**(Sept), 96-99.
- Greenwald, P, Nixon, D.W., Malone, W.F., Kelloff, G.J., Stern, H.R., Witkin, M.S. and Witkin, K.M (1990): Concepts in cancer chemoprevention research, *Cancer Res.*, **65**, 1483-1490.
- Guengerich, F.P and Kim, D.H. (1991): Enzymatic oxidation of ethyl carbamate to vinyl carbamate and its role as an intermediate in the formation of 1, $N^6$ -ethenoadenosine, *Chem. Res. Toxicol.*, **4**, 413-421.
- Guengerich, F.P, Kim, D.H. and Isawaki, M. (1991): Role of human cytochrome P-450IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects, *Chem. Res. Toxicol.*, **4**, 168-179.
- IARC (1974): Monographs on the evaluation of the carcinogen risk of chemicals to man; Some antihyroid and related substances, nitrofurans and industrial chemicals, Vol. 7, Urethane, International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp. 111-140.
- Izzotti, A., Balansky, R.M., Coscia, N., Scatolini, L., D'Agostini, F. and De Flora, S (1992): Chemoprevention of smoke-related DNA adduct formation in rat lung and heart, *Carcinogenesis*, **13**, 2187-2190.
- Kelloff, G.J., Boone, C.W., Crowell, J.A. and Steele, V.E. (1996): New agents for cancer chemoprevention, *J. Cell. Biochem.*, **26**, 1-28.
- Kim, H.J., Chun, Y.J., Park, J.D., Kim, S.I., Roh, J.K. and Jeong, T.C. (1997): Protection of rat liver microsomes against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation by red ginseng saponin through cytochrome P450 inhibition, *Planta Medica*, **63**, 415-418.
- Kim, H.S., Kacew, S. and Lee, B.M. (1999): *In vitro* chemopreventive effects of plant polysaccharides (*Aloe barbadensis miller*, *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* and *Coriolus versicolor*), *Carcinogenesis*, **20**, 1637-1640.
- Lee, B.M., Lee, S.K. and Kim, H.S. (1998): Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, beta-carotene and red ginseng), *Cancer Lett.*, **132**, 219-227.
- Loeb, L.A. (1985): Apurinic sites as mutagenic intermediates, *Cell*, **40**, 483-484.
- Massey, J.S.M. (1976): Ginseng folklore cure-all is being regarded seriously. *Smithonian*, 104-111.
- Miller, J.A. and Miller, E.C. (1983): The metabolic activation and nucleic acid adducts of naturally-occurring carcinogens: Recent results with ethyl carbamate and the spice flavors safrole and estragole. *Br. J. Cancer*, **48**, 1-15.
- Mirvish, S.S. (1968): The carcinogenic action and metabolism of urethane and *N*-hydroxyurethan, *Adv. Cancer Res.*, **11**, 1-42.
- Morita, K., Hara, M. and Kada, T. (1978): Studies on natural desmutagens: Screening for vegetables and fruits factors active in inactivation of mutagenic pyrolysis products from amino acids, *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1235-1238.
- Morse, M.A. and Stoner, G.D. (1993): Cancer chemoprevention, *Carcinogenesis*, **14**, 1737-1746.
- Nettleship, A., Henshaw, P.S. and Meyer, H.L. (1943): Induction of pulmonary tumors in mice with ethyl carbamate (urethane), *J. Natl. Cancer Inst.*, **4**, 309-319.
- Oesch, F. and Doerjter, G. (1982): Detection  $N^2,3$ -ethenoguanosine in DNA after treatment with chloroacetaldehyde *in vitro*, *Carcinogenesis*, **3**, 663-665.
- Offord, E.A., Mace, K., Avanti, O. and Pfeifer, A.M. (1997): Mechanisms involved in the chemopreventive effects of rosemary extract studied in human liver and bronchial cells, *Cancer Lett.*, **19**, 275-281.
- Otteneeder, M. and Lutz, W.K. (1999): Correlation of DNA adduct levels with tumor incidence: carcinogenic potency of DNA adducts, *Mutat. Res.*, **424**, 237-247.
- Park, K.K., Liem, A., Stewart, B.C. and Miller, J.A. (1993): Vinyl carbamate epoxide, a major strong electrophilic mutagenic and carcinogenic metabolite of vinyl carbamate and ethyl carbamate (urethane), *Carcinogenesis*, **14**, 441-450.
- Park, K.K., Surh, Y.J. and Miller J.A. (1995): Chemoprotective properties of chlorophyllin against vinyl carbamate, *p*-nitrophenyl vinyl ether and their electrophilic epoxides. *Cancer Lett.*, **94**, 33-40.
- Robinson, E.W. and Nelson, R.L. (1989): Inhibition of 1,2-dimethylhydrazine nuclear damage in rat colonic epithelium by chlorophyllin. *Anticancer Res.*, **9**, 981-986.

- Sato, K., Mochizuki, M., Saiki, I., Yoo, Y.C., Samukawa, K. and Azuma, I. (1994): Inhibition of tumor angiogenesis and metastasis by a saponin of *Panax ginseng*, ginsenoside-Rb2. *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 635-639.
- Singer, B., Spengler, S.J., Chavez, F. and Kusmierek, J.T. (1987): The vinyl chloride-derived nucleoside,  $N^2,3$ -ethenoguanosine, is a highly efficient mutagen in transcription. *Carcinogenesis*, **8**, 745-747.
- Singer, B., Kusmierek, J.T., Folkman, W., Chavez, F. and dosanjh, M.K. (1991): Evidence for the mutagenic potential of the vinyl chloride induced adduct,  $N^2,3$ -etheno-deoxyguanosine, using a site-directed kinetic assay. *Carcinogenesis*, **12**, 745-747.
- Sohn, H.O., Lim, H.B., Lee, Y.G., Lee, D.W. and Kim, Y.T. (1993): Effect of subchronic administration of antioxidants against cigarette smoke exposure in rats. *Arch. Toxicol.*, **67**, 667-673.
- Sporn, M.B. (1976): Approaches to prevention of epithelial cancer during the preneoplastic period. *Cancer Res.*, **36**, 2699-2702.
- Sporn, M.B. (1991): Carcinogenesis and cancer. *Cancer Res.*, **51**, 6215-6218.
- Sugaya, A., Yuzurihara, M., Tsuda, T., Yasuda, K., Kajiwara, K. and Sugaya, E. (1988): Proliferative effect of ginseng saponin on neurite extension of primary cultured neurons of the rat cerebral cortex. *J. Ethnopharmacol.*, **22**, 173-181.
- Tadi, P.P., Lau, B.H., Teel, R.W. and Herrmann, C.E. (1991): Binding of aflatoxin B<sub>1</sub> to DNA inhibited by ajoene and diallyl sulfide. *Anticancer Res.*, **11**, 2037-2041.
- Wattenberg, L.W. (1978): Inhibition of chemical carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.*, **60**, 11-18.
- Xiaoguang, C., Hongyan, L., Xiaohong, L., Zhaodi, F., Yan, L., Lihua, T. and Rui, H. (1998): Cancer chemopreventive and therapeutic activities of red ginseng. *J. Ethnopharmacology*, **60**, 71-78.
- Yun, T.K., Yun, Y.S. and Han, I.W. (1980): An experimental study on tumor inhibitory effect of red ginseng in mice and rats exposed to various chemical carcinogens. *Proceedings of the 3rd International Ginseng Symposium*. Korea Ginseng Research Institute Press, Seoul, Korea. 1980, pp. 87-113.
- Yun, T.K., Yun, Y.S. and Han, I.H. (1983): Anticarcinogenic effect of long-term oral administration of red ginseng on newborn mice exposed to various chemical carcinogens. *Cancer Detect. Prev.*, **6**, 515-525.
- Yun, T.K., Kim, S.H. and Oh, Y.R. (1987): Medium-term (nine weeks) method for assay of preventive agents against tumors. *J. Korean Cancer Res. Assoc.*, **19**, 1-7.
- Yun, T.K. and Kim, S.H. (1988): Inhibition of development of benzo[a]pyrene-induced mouse pulmonary adenoma by several natural products in medium-term bioassay system. *J. Korean Cancer Assoc.*, **20**, 133-142.
- Yun, T.K. and Choi, S.Y. (1990): A case-control study of ginseng intake against various human cancers. *Int. J. Epidemiol.*, **19**, 871-876.
- Yun, T.K. (1992): Usefulness of medium-term bioassay determining formation of pulmonary adenoma in NIH (GP) mice for finding anticarcinogenic agents from natural products. *J. Toxicol. Sci. (Japan)*, **16** (Suppl. 1), 53-62.
- Yun, T.K. and Choi, S.Y. (1995a): Preventive effect of ginseng intake against various human cancers: A case-control study on 1987 pairs. *Cancers Epidemiol. Biomarkers and Prevention*, **4**, 401-408.
- Yun, T.K., Kim, S.H. and Lee, Y.S. (1995b): Trial a new medium-term model using benzo[a]pyrene induced lung tumor in new born mice. *Anticancer Res.*, **15**, 839-846.
- Yun, T.K. (1996): Experimental and epidemiological evidence of the cancer-preventive effects of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Nutrition Reviews*, **54**, S71-S81.
- Zimmerli, B. and Schlatter, J. (1991): Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment. *Mutat. Res.*, **259**, 325-350.