

## 직접 돌연변이원에 대한 가시오갈피 추출물의 항돌연변이 효과

박정섭 · <sup>1</sup>안병용 · <sup>2</sup>고하영 · †최동성  
† 우석대학교 생명공학부, <sup>1</sup>익산대학교 생명과학과, <sup>2</sup>우석대학교 식품영양 식품공학부  
(접수 : 2003. 5. 16., 게재승인 : 2003. 6. 25.)

### Inhibitory Effect of Methanol Extract of *Eleutherococcus senticosus* Maxim. on the Direct Mutagen Mutagenicity

Jeong-Seob Park, Byung-Yong Ahn<sup>1</sup>, Ha-Young Koh<sup>2</sup>, and Dong-Seong Choi†  
Division of Bioscience and Biotechnology, Woosuk University, Samrye, Jeonbuk 565-701, Korea  
<sup>1</sup>Department of Life Science, Iksan National College, Iksan, Jeonbuk 333-333, Korea  
<sup>2</sup>Division of Food science and Nutrition, Woosuk University, Samrye, Jeonbuk 565-701, Korea  
(Received : 2003. 5. 16., Accepted : 2003. 6. 25.)

Antimutagenic effects of *Eleutherococcus senticosus* Maxim. on the mutagenicity induced by direct mutagens, 4-NQO, MNNG, NaN<sub>3</sub>, 4-NPD, 2-NF, and 1-NP was studied by the Ames test with *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. The methanol extract (500 µg/plate) of *E. senticosus* Maxim. showed inhibitory effect on the mutagenicity induced by 1-NP only among the tested mutagens. In *S. typhimurium* TA98, the methanol extracts of the root, stem and leaf showed inhibitory effects of 54.9, 29.5, and 32.9% inhibition on 1-NP mutagenicity, respectively. In *S. typhimurium* TA100, the methanol extracts of the root, stem, and leaf showed inhibitory effects of 59.7, 30.2, and 43.6%, respectively. The methanol extract were further fractionated by a subsequent liquid-liquid partition technique with chloroform, butanol, and water. The chloroform (300 µg/plate) fraction of the root, stem and leaf showed the strong antimutagenic effects on the mutagenicity induced by 1-NP in *S. typhimurium* TA98 and TA100. But none or weak antimutagenicities were observed in the butanol and aqueous fraction. The chloroform fractions of root, stem and leaf showed the antimutagenic effects of 61.6~88.6% in a dose-dependent manner. In the antimutagenic mode test, the inhibitory effect of root was mainly bio-antimutagenic, whereas stem and leaf were desmutagenic.

**Key Words :** *Eleutherococcus senticosus*, antimutagenicity, direct mutagen, Ames test

### 서 론

가시오갈피 (*Eleutherococcus senticosus* Maxim.)는 두릅나무과에 속하는 낙엽성 활엽관목으로 그 생김새가 산삼을 닮아 러시아 및 미주·유럽지역에서는 Siberian ginseng이라 불리우고 있으며, 약리효과가 매우 광범위하여 세계적인 관심을 끌고 있는 약용식물로서 국내에서도 다양한 형태의 제품으로 개발되어 건강보조식품으로 판매되고 있다. 1969년 Brekhmann 등에 의해 가시오갈피의 adaptogen으로서의 효능이 처음으로 규명된(1) 이후 다양한 생리활성 물질이 밝혀졌는데, 항피로, 항스트레스, 면역력 증진, CNS 활성화 및 항우울증

등의 효과 물질로 lignans와 iridoid glycosides 등(2), 담즙 분비를 촉진하는 물질로 isofraxidin(3), 고콜레스테롤 혈증에 대한 효과물질로 sesamin(4), 방사선에 의한 DNA 손상 억제물질로 syringin(5), 항암물질로 sesamin(6), 수영 스트레스 억제 및 항산화 물질로 다수의 페놀 성분(7, 8) 등이 함유되어 있음이 보고되어 있다. 한편 가시오갈피의 항돌연변이 효과에 대한 연구로는 양파와 보리의 염색체 변이의 빈도를 감소시켰다는 Strelchuk(9)의 보고와 Chinese hamster cell의 염색체 이상을 감소시켰다는 Salikhova 등(10)과 Umnova 등(11)의 보고가 있으며, 세균시험계에서 연구한 논문으로는 간접 변이원인 2-AF와 Trp-P-1에 의해 유도된 돌연변이에 대한 억제 효과를 연구한 Park 등(12)의 보고만이 있을 뿐이다.

돌연변이 억제물질은 작용방식에 따라 bio-antimutagen과 desmutagen으로 구분되며 bio-antimutagen은 질병은 물론 유전독성물질에 의해 유도되는 돌연변이를 차단하여 암의 예방에 기여하므로 그 중요성이 강조되고 있다(13). 따라서 가시오갈피 추출물의 이러한 가능성을 검토하기 위하여 저자들은

† Corresponding Author : Division of Bioscience and Biotechnology, Woosuk University, Samrye, Jeonbuk 565-701, Korea

Tel : +82-63-290-1430 Fax : +82-63-290-1429

E-mail : dschoi@woosuk.ac.kr

각각의 직접 변이원 (4-NQO, MNNG, NaN<sub>3</sub>, 4-NPD, 2-NF, 1-NP)에 의해 유도된 돌연변이에 대한 가시오갈피 메탄올 추출물의 억제효과 및 그의 작용방식을 Ames test로 조사하였다.

**재료 및 방법**

**재료**

본 실험에 사용된 가시오갈피는 전라북도 장수에서 재배된 시료를 장수 가시오갈피 영농조합으로부터 기증 받아 사용하였으며, 돌연변이원인 4-nitroquinoline N-oxide (4NQO)은 Sigma사, N-methyl-N-nitro-N'-nitrosoguanidine (MNNG)는 Fluk사, sodium azide (NaN<sub>3</sub>)는 Junsei Chemical사, 4-nitro-1, 2-phenylenediamine (4-NPD), 2-nitrofluorene (2-NF), 1-nitropyrene (1-NP)은 Aldrich사 제품을 사용하였다. *Salmonella typhimurium* TA98 (*hisD3052 rfa ΔuvrB* pKM101)과 TA100 (*hisG46 rfa ΔuvrB* pKM101)은 한국생명공학연구원 유전자은행으로부터 분양 받아 각각의 유전형질을 확인한 후 사용하였다.

**시료의 추출 및 분획**

가시오갈피의 뿌리, 줄기 및 잎 중 뿌리와 줄기는 증류수로 2~3회 수세한 다음 음건하였고, 잘게 세정하였다. 이들 시료의 일정량을 삼각플라스크에 넣고 10배량의 80% 메탄올을 첨가하여 40℃에서 10시간씩 3회 진탕 추출한 다음 여과하였다. 이 여과액을 4℃에서 12시간 동안 냉각하여 다시 여과하고, 그의 여과액을 감압 농축한 후 동결건조를 하였다. 각각의 부위에서 얻어진 80% 메탄올 추출물을 용매의 극성에 따라 클로로포름, n-부탄올 및 물층으로 순차적으로 분획하고 감압 농축한 다음 동결건조를 하였으며, 이 추출물들은 -20℃에 보관하고 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 용해하여 실험에 사용하였다.

**돌연변이 억제시험**

돌연변이 억제시험은 Ames test (preincubation method)로 실시하였다(14). 멸균시킨 시험관에 각 농도의 변이원 50 μL, 0.1 M 인산나트륨 완충용액 (pH 7.2) 0.5 mL, 각 농도의 가시오갈피 추출물 50 μL, Oxoid nutrient broth No. 2에 하룻밤 배양시킨 균 배양액 (1~2×10<sup>9</sup> CFU/mL) 100 μL를 혼합하고,

37℃에서 210 rpm으로 20분간 진탕 배양하였다. 배양액에 0.5 mM histidine과 biotin을 함유한 top agar 2 mL를 혼합한 후 minimal glucose agar plate [agar 15 g, 멸균수 930 mL, 50 × VB salt 20 mL, 40% glucose 50 mL] 상에 도포, 37℃에서 48시간 배양하여 발생한 복귀 돌연변이주 (*his*<sup>+</sup> revertant colony)의 수를 계수하여 항돌연변이원성을 판정하였다. 항돌연변이 효과(억제율)는  $[M-S_1 / (M-S_0) \times 100]$ 으로 계산하였고, 돌연변이원을 첨가하였을 때 복귀 돌연변이주의 수를 M, 자연 복귀 돌연변이주의 수를 S<sub>0</sub>, 돌연변이원과 시료를 첨가했을 때의 복귀 돌연변이주의 수를 S<sub>1</sub>으로 나타내었다. 각각의 실험은 2반복 (2 plate × 2) 실시하였다.

**Bio-antimutagen 시험**

Bio-antimutagen 시험은 Ames test(14, 15)에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 즉 균 배양액(1~2×10<sup>9</sup> CFU/mL) 3 mL에 변이원인 1-NP 60 μL(12 μg)를 첨가하고 37℃에서 210 rpm으로 20분간 진탕배양하여 DNA 손상을 유도한 다음, 4,500×g로 20분간 원심 분리하여 집균하였다. 집균한 균체를 3 mL의 0.1 M 인산나트륨 완충용액으로 세정하여 원심분리하고 다시 동량의 인산 완충용액으로 현탁하였다. 이 현탁액 100 μL에 0.1 M 인산나트륨 완충용액 0.5 mL, 가시오갈피의 클로로포름 분획층 50 μL (뿌리, 줄기 200 μg/plate; 잎 100 μg/plate)를 첨가하고, 37℃에서 0, 5, 10, 20, 40, 60분간 각각 진탕 배양하였다. 배양액에 0.5 mM histidine과 biotin을 함유한 top agar 2 mL를 혼합한 다음, minimal glucose agar plate 상에 도포하여 48시간 동안 배양하였다. 배양 후 발생한 복귀 돌연변이주의 수를 계수하여 비교 판정하였다.

**결과 및 고찰**

**메탄올 추출물의 돌연변이 억제효과**

직접돌연변이원인 4-NQO, MNNG, NaN<sub>3</sub>, 4-NPD, 2-NF 및 1-NP에 의해 유도된 돌연변이에 대한 가시오갈피 뿌리, 줄기, 잎의 80% 메탄올 추출물의 억제효과를 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주를 이용하여 Ames test로 평가하였으며, 그 결과는 Table 1과 같다. 4NQO, MNNG, NaN<sub>3</sub>, 4-NPD 및 2-NF로 각각 돌연변이를 유발하였을 경우, 생육억제 및 돌연변이원성을 나타내지 않는 농도인 500 μg/plate 농도(12)에서 8.9% 이하의 낮은 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 그러나

**Table 1.** Antimutagenic effect of methanol extract of *Eleutherococcus senticosus* on the mutagenicity of direct mutagens in *S. typhimurium* TA98 and TA100

Mutagens	Conc. of mutagen (μg/plate)	Conc. of sample (μg/plate)	Inhibition rate(%)					
			<i>S. typhimurium</i> TA98			<i>S. typhimurium</i> TA100		
			Root	Stem	Leaf	Root	Stem	Leaf
4-NQO	0.5	500	- <sup>1)</sup>	-	-	2.6	1.5	2.7
MNNG	0.4	500	-	-	-	1.4	-3.5	2.4
NaN <sub>3</sub>	0.5	500	-	-	-	3.4	2.7	0.6
4-NPD	10.0	500	3.8	5.4	6.7	2.1	8.9	4.5
2-NF	3.0	500	-0.5	2.7	3.6	2.1	0.9	5.8
1-NP	1.0	500	54.9	29.5	32.9	59.7	30.2	43.6
		100	12.2	15.9	29.3	16.3	21.7	20.9

1) no induction

1-NP로 돌연변이를 유발하였을 경우, 돌변경 변이주인 *S. typhimurium* TA98에서는 뿌리, 줄기, 잎 추출물의 돌연변이 억제효과는 각각 54.9, 29.5, 32.9%를 나타내었고, 염기쌍 치환 변이주인 *S. typhimurium* TA100에서는 각각 59.7, 30.2, 43.6%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 한편 100 µg/plate 농도를 처리했을 때는 *S. typhimurium* TA98에서 각각 12.2, 15.9, 29.3%의 억제효과를, *S. typhimurium* TA100에서 각각 16.3, 21.7, 20.9%의 억제효과를 나타내었다. 이러한 결과로부터 6종의 직접변이원에 대한 가시오갈피 부위별 추출물은 1-NP의 변이원성에 대한 선택적인 억제효과를 나타내며, 부위별로는 뿌리 추출물이 가장 강한 억제효과를 나타냄을 알 수 있었다.

Polycyclic aromatic hydrocarbon의 일종인 1-NP는 디젤 연소시 배출되는 부산물로서 도시 상공의 대기 중에 57 µg/m<sup>3</sup>의 농도로 존재하고(16), 소스를 발라 도시가스로 구운 닭 꼬치구이에는 굽는 시간에 따라 다르기는 하나 7분을 구웠을 경우 43 ng/g이 존재한다(17). 이러한 1-NP는 식사나 호흡기를 통해 흡수되는데, 특히 호흡기를 통해 흡수된 1-NP는 폐에 다량 축적되어 암을 유발하는 것으로 알려져 있다(16). 1-NP는 직접변이원(18)으로서 DNA adduct를 형성하여 DNA

를 손상시키고, 그의 대사산물인 1-nitrosopyrene은 NADH 존재 하에서 DNA-Cu-hydroperoxo complex를 형성하여 산화적인 DNA 손상을 일으켜 암을 유발한다(19).

**용매분획물의 돌연변이 억제효과**

가시오갈피 뿌리, 줄기 및 잎의 메탄올 추출물을 순차적으로 용매 분획하여 클로로포름, 부탄올, 물 층으로 분획하였으며, 각각 수율 19.9, 21.2, 55.2%의 뿌리 분획물, 9.9, 15.8, 73.0%의 줄기 분획물, 7.3, 38.2%, 51.5%의 잎 분획물을 얻었다. 이를 이용하여 세포독성을 나타내지 않는 300 µg/plate (클로로포름 층, 부탄올 층)와 400 µg/plate (물 층)의 농도에서 돌연변이 억제효과를 검색하였다(Fig. 1). *S. typhimurium* TA98에서 가시오갈피의 뿌리 분획물은 각각 66.5, -4.8, -4.4%, 줄기 분획물은 각각 58.6, -5.6, -7.6%, 잎 분획물은 각각 86.5, -1.9, -0.7%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 또한 *S. typhimurium* TA100에서 가시오갈피의 뿌리 분획물은 각각 69.1, 13.4, 12.2%, 줄기 분획물은 각각 64.1, 13.9, 11.9%, 잎 분획물은 각각 82.8, 9.2, 13.5%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 이러한 결과는 가시오갈피의 클로로포름 분획층이 간접변이원인 Trp-P-1과 2-AF에 대해 용량 의존적

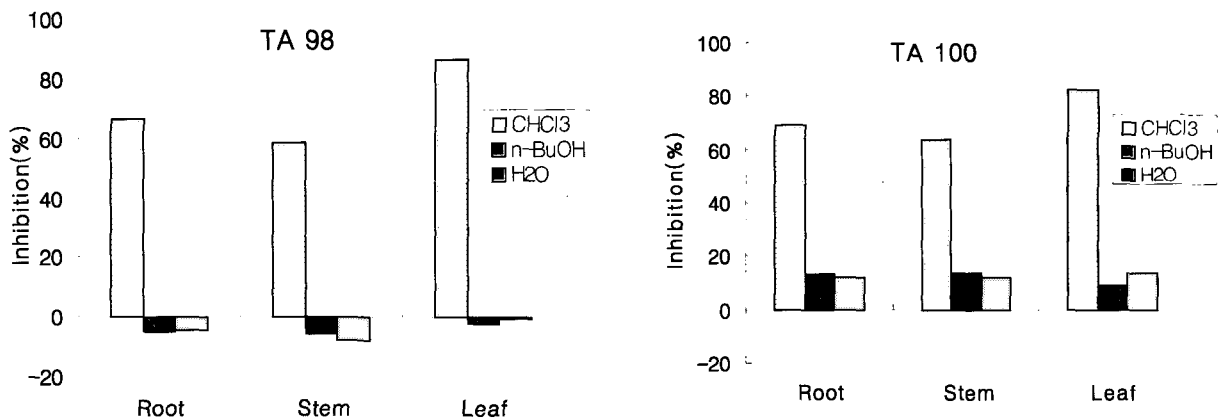


Figure 1. Antimutagenic effects of solvent fractions of *Eleutherococcus senticosus* methanol extract on the mutagenicity of 1-NP (1.0 µg/plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100. Sample concentrations of CHCl<sub>3</sub>, n-butanol and H<sub>2</sub>O fraction added to the plates were 300 µg, 300 µg, and 400 µg, respectively.

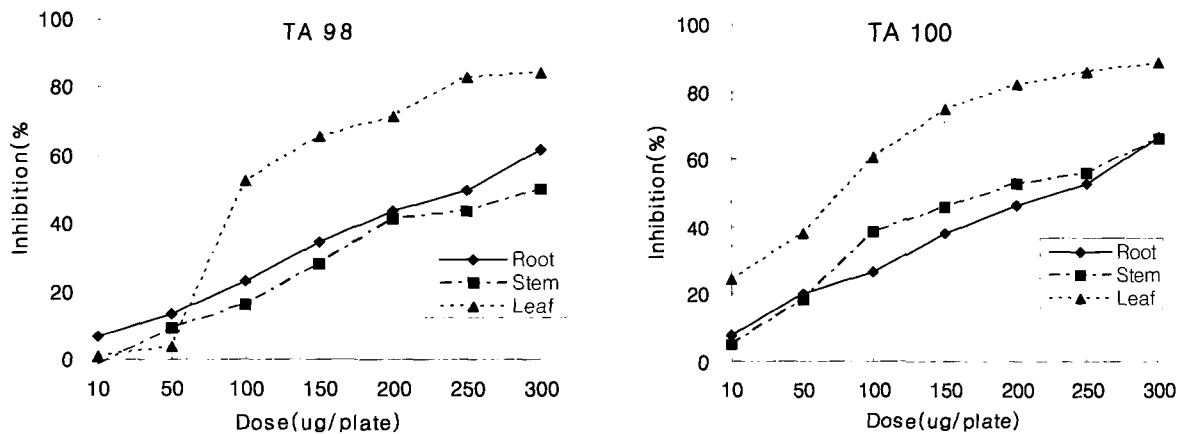


Figure 2. Dose-dependent antimutagenic effect of CHCl<sub>3</sub> fraction of *Eleutherococcus senticosus* methanol extract on the mutagenicity of 1-NP (1.0 µg/plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100.

으로 돌연변이 억제효과를 나타내었다는 Park 등(12)의 연구 결과와 일치하고 있으며, 직접변이원에 대한 항돌연변이 효과를 나타내는 유효성분이 비극성 물질임을 시사하고 있다. 1-NP의 변이원성에 대한 억제효과가 확인됨에 따라 클로로포름 층을 10~300 µg/plate의 농도로 첨가하여 농도의 증가에 따른 돌연변이 억제효과를 검토하였다(Fig. 2). *S. typhimurium* TA98에서 뿌리, 줄기, 잎의 억제효과는 최저 농도인 10 µg에서 6.9, 11.5, 1.0%, 최고 농도인 300 µg에서 61.6, 50.2, 84.5%의 돌연변이 억제효과를 각각 나타내어 용량 의존적으로 돌연변이를 억제하였다. *S. typhimurium* TA100에서도 뿌리, 줄기, 잎의 억제효과는 최저 농도인 10 µg에서 7.6, 4.9, 24.5%, 최고 농도인 300 µg에서 66.5, 66.3, 88.6%의 돌연변이 억제효과를 각각 나타내어 용량 의존적으로 돌연변이를 억제하였다.

Deyama 등(2)은 가시오갈피의 근피와 수피로부터 10종류의 화합물을 분리 동정하고 그의 약리학적 성질은 주로 ligan과 iridoid glycoside 류에 의한다고 보고하였으며, Nishibe 등(7)은 가시오갈피 수피로부터 분리 동정한 10종류의 페놀성분 중 (+)-syringaresinol-di-O-β-D-glucoside에 래트의 만성적 수영 스트레스를 억제하는 효과가 있음을 보고하였다. 또한 Lai 등(20)은 야채 추출물의 항돌연변이 효과는 주로 chlorophyll에 기인함을 보고하였고, chlorophyll과 그의 수용성 형인 chlorophyllin은 Trp-P-2와 같은 polycyclic planar 구조를 갖는 변이원과 복합체를 형성하여 돌연변이를 억제한다는 것이 Neigishi 등(21)에 의해 밝혀진 바 있다. 이러한 페놀류, ligan류, chlorophyll 등과 같은 성분들은 각종 생리활성을 나타내는 성분으로 세균시험계에서 항돌연변이원성을 나타내며, 가시오갈피의 잎, 줄기, 뿌리에서도 이러한 성분들이 항돌연변이원성을 나타낸 것으로 추정된다.

**돌연변이 억제의 작용기작**

직접변이원의 경우 cytochrome P450에 의한 대사활성화 없이도 돌연변이를 유발할 수 있어 직접변이원에 대한 항돌연변이원성은 세포내 및 세포외 항돌연변이원성으로 정확하게 평가될 수 있기 때문에 직접 돌연변이원인 1-NP에 대한 가시오갈피 뿌리, 줄기, 잎의 클로로포름 층의 bio-antimutagen 및 desmutagen으로서의 작용기작을 검토하였다.

Bio-antimutagen 시험에 있어서 1-NP로 돌연변이를 일으킨 균체에 가시오갈피 뿌리의 클로로포름 층 분획물을 50% 정도의 돌연변이 억제효과를 나타내는 농도인 200 µg/plate (뿌리와 줄기)와 100 µg/plate (잎)의 농도로 각각 첨가하고 37°C에서 0~60분간 진탕배양한 다음, Ames test로 조사하였다. 1-NP에 의해 변이가 유도된 균체와 클로로포름 층 분획물이 접촉 반응하는 시간이 증가함에 따라 *S. typhimurium* TA98과 TA100에서 돌연변이 억제효과가 뚜렷하게 나타났고, 0분에 각각 188, 128개이었던 돌연변이주의 수가 60분간 접촉 반응하였을 때에는 각각 75, 86개로 감소하였으며 대조구와 비교한 결과 각각 67.5, 39.4%의 억제효과를 나타내었다. 염기쌍 치환 변이주인 *S. typhimurium* TA100에서보다 틀변경 변이주인 *S. typhimurium* TA98에서 강한 억제효과를 나타내었다. 가시오갈피 줄기와 잎의 클로로포름 층에서는 접촉 반응시간이 증가하여도 돌연변이 억제효과를 거

의 나타내지 않았다(Table 2). 이러한 결과로부터 가시오갈피의 뿌리에는 세포 내에서 1-NP에 의해 손상된 DNA의 수복과 복제 등 DNA 대사에 관여하여 돌연변이 억제효과를 나타내는 bio-antimutagen이 주로 함유되어 있고, 줄기와 잎에는 세포 밖에서 1-NP를 흡착하여 돌연변이 억제효과를 나타내는 desmutagen 성분(22)이 함유되어 있음이 시사되었다.

Bio-antimutagen은 질병은 물론 유전독성물질에 의해 유도되는 돌연변이를 차단하여 암의 예방에 기여하기 때문에(13), 이에 저자들은 가시오갈피의 항돌연변이 물질을 규명하기 위해서 가시오갈피 뿌리의 클로로포름 분획물로부터 항돌연변이 성분을 분리, 동정하는 연구를 수행하는 중에 있다.

**Table 2.** Bio-antimutagenic effect of CHCl<sub>3</sub> fraction of *Eleutherococcus senticosus* root, stem, and leaf in *S. typhimurium* TA98 and TA100 on the mutagenicity induced by 1-NP

Incubation time (min)	Revertants/plate <sup>1)</sup>					
	TA98			TA100		
	Root	Stem	Leaf	Root	Stem	Leaf
0	188	198	201	128	137	136
5	185	211	210	124	125	121
10	178	202	209	121	131	129
20	120	208	206	116	127	119
40	93	204	207	102	121	124
60	75	207	212	86	128	131
1-NP control <sup>2)</sup>	231			142		

1) Sample concentrations of *Eleutherococcus senticosus* root, stem, and leaf added to the plates were 200 µg, 200 µg, and 100 µg/ plate, respectively.

2) Samples were not added.

**요 약**

Ames test (*S. typhimurium* TA98, TA100)에서 6종의 직접 변이원에 대한 가시오갈피(뿌리, 줄기, 잎)의 메탄올 추출물 및 용매 분획물의 항돌연변이 효과를 고찰하였다. *Salmonella typhimurium* TA98, TA100에서, 6종의 직접변이원으로 유도된 각각의 변이원성에 대한 가시오갈피 뿌리, 줄기 및 잎의 메탄올 추출물의 돌연변이 억제효과를 검색한 결과 1-nitropyrene의 변이원성에 대하여 선택적으로 강한 억제효과를 나타내었다. 따라서 1-nitropyrene 변이원의 돌연변이원성에 대한 용매분획물의 활성을 비교한 결과 클로로포름 분획물이 가장 강한 억제효과를 나타내었다. *S. typhimurium* TA98, TA100에서, 뿌리의 클로로포름 분획물은 세포내 항돌연변이 효과를 강하게 나타낸 반면 줄기와 잎은 세포내 돌연변이 억제효과를 나타내지 않았다. 이 결과로부터 가시오갈피 뿌리에는 주로 세포내 항돌연변이 효과를, 줄기와 잎에는 세포외 항돌연변이 효과를 강하게 나타내는 활성 성분이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

**감 사**

본 연구는 우석대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

1. Brekhmann, I. I. and I. D. Dardymov (1969), New substances of plant origin which increase nonspecific resistance, *Ann. Rev. Pharmacol.* **9**, 419-430.
2. Deyama, T., S. Nishibe, and Y. Nakazawa (2001), Constituents and pharmacological effects of *Eucommia* and Siberian ginseng, *Acta. Pharmacol.* **22**, 1057-1070.
3. Danielak, R., E. Popowska, and B. Borkowski (1973), The preparation of vegetable products containing isofraxidin, silibin, and Glaucium alkaloids and evaluation of their choloretic action, *Polish J. Pharmacol. Pharma.* **25**, 271-283.
4. Hirata, F., K. Fugita, Y. Ishihara, K. Hossoda, and H. Ishikawa (1996), Hypocholesterolemic effect of sesame lignan in humans, *Atherosclerosis* **122**, 135-136.
5. Ruijun, Z., Q. Jinkang, Y. Gnanghua, W. Baozhen, and W. Xiulan (1990), Medicinal protection with Chinese herb-compound against radiation damage, *Aviation, Space and Environmental Medicine* **61**, 729-731.
6. Hibasami, H., T. Fujikawa, H. Takeda, S. Nishibe, T. Satoh, T. Fujisawa, and K. Nakashima (2000), Incuction of apoptosis by *Acanthopanax senticosus* HARMS and its component, sesamin in human stomach cancer KATO III cells, *Oncol Rep.* **7**, 1213-1216.
7. Nishibe, S., H. Kinoshita, H. Takeda, and G. Okano (1990), Phenolic compounds from stem bark of *Acanthopanax senticosus* and their pharmacological effect in chronic swimming stressed rats, *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 1763-1765.
8. Davydov, M. and A. D. Kirkorian (2000), *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look, *J. Ethnopharmacol.* **72**, 345-393.
9. Strel'chuk, S. I. (1987), Antimutagenic effect of *Eleutherococcus* extracts on plants treated with ethylmethane sulfonate, *Tsitol. Genet.* **21**, 136-139.
10. Salikhova, R. A., N. V. Umnova, M. M. Fomina, and G. G. Poroshenko (1994), An antimutagenicity study of bioginseng, *Izvestiia Akademii Nauk Seriya Biologicheskaya* **1**, 48-55.
11. Umnova, N. V., T. L. Michurina, N. I. Smirnova, I. V. Aleksandrova, and G. G. Poroshenko, Study of antimutagenic properties of bio-ginseng in mammalian cells *in vitro* and *in vivo*. *Biulleten Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny* **111**, 507-509 (1991)
12. Park, J. S., C. H. Oh, H. Y. Koh, and D. S. Choi (2002), Antimutagenic Effect of Extract of *Eleutherococcus senticosus* Maxim., *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 1110-1114.
13. Kuroda, Y. and T. Inoue (1988), Antimutagenesis by factors affecting DNA repair in bacteria, *Mutation Res.* **202**, 387-390.
14. Maron, D. M. and B. N. Ames (1983), Revised methods for the *S. typhimurium* mutagenicity test, *Mutation Res.* **113**, 173-215.
15. Shimoi, K. and I. Tomita (1990), Antimutagens in food and their antimutagenic assays, *Technical J. Food Chemistry & Chemicals* **6**, 59-64.
16. Chan, P. (1996), NTP technical report on the toxicity studies of 1-nitropyrene (CAS No. 5522-43-0), Administered by Inhalation to F344/N Rats, *Toxic. Rep. Ser.* **34**, 1-D2.
17. Kinouchi, T., H. Tautsui, and Y. Ohnishi (1986), Detection of 1-nitropyrene in yakidori (grilled chicken), *Mutation Res.* **171**, 105-103.
18. Sato, T. and Y. Ose (1986), Desmutagenic effect of humic acid, *Mutation Res.* **162**, 73-178.
19. Ohnishi, S., M. Murata, K. Fukuhara, N. Miyata, and S. Kawanishi (2001), Oxidative DNA damage by a metabolite of carcinogenic 1-nitropyrene, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **280**, 48-52.
20. Lai, C. N., M. A. Bulter, and T. S. Matney (1980), Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content, *Mutation Res.* **77**, 245-250.
21. Neigishi, T., S. Arimoto, C. Nishizaki, and H. Hayatsu (1989), Inhibitory effect of chlorophyll on the genotoxicity of 3-amino-1-methyl-5-H-pyridol[4,3-b]indole (Trp-P-2), *Carcinogenesis* **10**, 145-149.
22. Sato, T., Y. Ose, H. Nagase, and K. Hayase (1987), Adsorption of mutagens by humic acid, *Sci. Total Environ.* **62**, 305-310.