

## 페난트렌에 의한 임파구 DNA의 산화적 손상과 인삼추출물에 의한 억제

유아름 · 이미영\*

순천향대학교 의료생명공학과

(2009년 11월 11일 접수; 2009년 12월 4일 수정; 2009년 12월 7일 수리)

### Phenanthrene-induced Oxidative DNA Damage of Lymphocytes and the Suppression by Ginseng Extract

Ah-Reum Yoo and Mi-Young Lee\*

Department of Medical Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan, Chungnam 336-600, Korea

(Received November 11, 2009; Revised December 4, 2009; Accepted December 7, 2009)

**Abstract :** Phenanthrene ( $C_{14}H_{10}$ ) is a polycyclic aromatic hydrocarbon with three aromatic rings, and it can be produced by incomplete combustion of fossil fuels. Comet assay was used to examine the oxidative DNA damage of lymphocytes by phenanthrene and to measure the suppressive effects of ginseng extract on the DNA damage in this investigation. The *in vitro* oxidative DNA damage by phenanthrene increased in a dose-dependent manner in the lymphocyte. However, the DNA damage was significantly inhibited by ascorbate. Moreover, pretreatment, cotreatment and posttreatment with ginseng extract enhanced lymphocyte resistance to the phenanthrene-induced DNA damage. Phenanthrene enhanced the generation of intracellular reactive oxygen species, and the elevated reactive oxygen species level was reduced by treatment with ginseng extract.

**Key words :** comet assay, ginseng, phenanthrene, reactive oxygen species

## 서 론

다환방향족 탄화수소 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)는 2-7 개의 벤젠고리 화합물로 이루어져 있으며, 200 종류 이상의 화합물을 포함하고 있다. 또한 PAHs는 소수성 유기화합물로서 용해도가 매우 낮으므로 토양 내 흡착이 쉬울 뿐만 아니라 어디든지 존재할 수 있는 환경오염물질이다. PAHs는 화산활동이나 석유 유출 등의 자연적 요인에 의해 배출될 수 있지만, 화석연료의 생산과정과 사용과정에서 의도적으로 환경에 유출될 수도 있다. PAHs는 인간의 생활환경 중 담배연기, 디젤 배기가스, 용해된 타르나 아스팔트 등에 많은 양이 포함되어 있다. 환경으로 유출된 PAHs는 자연분해가 쉽지 않은 난분해성 물질로서 그 분해산물이 환경에 잔존하면서 인체에 독성을 나타내거나<sup>1)</sup> 암 발생률을 높이거나 유전적인 돌연변이를 일으킬 수 있어서<sup>2)</sup> 미국 EPA에서

PAHs중 16 종을 우선오염물질 (priority pollutant)로 분류하고 있다.

Phenanthrene은 가장 흔한 PAHs중의 하나로서 세 개의 벤젠고리를 가지고 있는 우선오염물질 중의 하나이다.<sup>3)</sup> Phenanthrene은 화석연료나 배기가스, 도시의 쓰레기 조각로, 코르크 공장에서 발생하는 불완전 연소에 의해 쉽게 생성된다.<sup>4)</sup> 난분해성 유해 화학물질인 phenanthrene의 생물학적 분해에 대한 연구가 많이 진행되어 왔으며, 그 결과 특정 미생물에 의한 분해경로가 알려져 있다.<sup>5)</sup>

Comet assay (single cell gel electrophoresis)는 단일세포의 DNA 손상을 확인할 수 있는 매우 민감하고 간편한 방법이다. pH 13 이상의 높은 염기성 조건에서 comet assay를 통해 유해화학물질에 의한 세포 내 DNA 손상을 쉽고 빠르게 관찰할 수 있다.<sup>6-8)</sup> Comet assay에서는 DNA의 이중사슬과 단일사슬의 손상이나 alkali-labile site (ALS) 부분의 손상 및 불완전하게 DNA 복구가 일어난 교차부분에서 그 손상을 측정할 수 있어서 발암과 돌연변이 유발 물질의 지표로 주목 받고 있다.<sup>9,10)</sup> 또한 comet assay를 사용하면

\*Corresponding author. E-mail: miyoung@sch.ac.kr  
Phone: +82-41-530-1355, Fax: +82-41-530-1355

phenanthrene 등의 유해 화학물질에 의한 세포 내 DNA 손상을 측정해 유전독성의 발생유무를 확인할 수 있으므로, 인공집단에 대한 바이오모니터링 뿐만 아니라 분자역학적인 연구에서의 효과적인 바이오마커 발굴 수단으로 이용되고 있다. 뿐만 아니라 Comet assay에서 측정되는 DNA의 손상은 산화적 손상에 의해서도 초래될 수 있기 때문에 항산화물질 처리에 의해 DNA 손상의 억제를 관찰할 수 있다 이를 이용하여 최근 항산화 물질의 스크리닝에도 comet assay를 사용하고 있다.<sup>11,12)</sup>

인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 생체 저항력과 항산화능력을 증진시켜 항상성을 유지시키는 작용을 할 뿐만 아니라 생체 정상화 작용 (adaptogen effect)을 한다고 널리 알려져 있다. 인삼에는 다양한 약리적인 효능이 있으며 특히 사포닌이 주요한 생화학적, 약리학적 효능을 나타내고 있다.<sup>13,14)</sup> 인삼의 주요 생리활성 성분은 크게 사포닌 성분과 비사포닌 성분으로 나눌 수 있다. 이중 비사포닌 성분으로는 페놀화합물, 폴리아세틸렌, 알칼로이드, 다당체, 이센셜오일, 아미노산, 지방산, 당류 및 무기물 등이 알려져 있다. 사포닌 성분은 인삼의 약리작용을 나타내는 대표적인 구성성분인 진세노사이드로 약 30 여개의 서로 다른 구조를 가진다. 진세노사이드는 다마렌 계열의 트리테르페노이드에서 유도되었으며, 트리테르페노이드는 30 개의 탄소원자가 4 개의 링 구조를 형성하고 있으며 당의 일부분이 붙어있는 스테로이드 유사구조를 가진다.<sup>15)</sup>

이 연구에서는 phenanthrene이 임파구 DNA에 얼마나 손상을 주는지 comet assay를 통해 측정하였다. 또한 phenanthrene에 의한 활성산소 생성으로 인한 DNA의 산화적 손상에 대한 인삼추출액의 억제효능을 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 임파구 분리

건강한 200~250 g의 Sprague-Dawley 종 수컷 흰쥐 (8 주령, ORIENT 실험동물)의 전혈 200  $\mu$ l를 phosphate buffered saline(PBS) 800  $\mu$ l와 섞은 후, histopaque 1077 (Sigma-Alorich, USA) 200  $\mu$ l 위에 섞이지 않도록 올린 후 1,450 rpm, 20°C에서 5 분간 원심분리 하였다. 상층의 혈장과 하층의 적혈구 사이의 buffy coat 층을 약 200  $\mu$ l 취해 PBS 1 ml과 섞어 1,450 rpm, 20°C에서 5 분간 원심분리 하였다. 상층액 제거 후 임파구 세포를 취해 comet assay에 사용하였다.

### 시험시료의 제조

Phenanthrene은 Tokyo chemical industry 제품 (Japan)

을 사용하였다. 본 연구에서는 6 년근 백삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer; 전풍농원)을 구입하여 사용하였다. 유효성분을 추출하기 위하여 인삼을 파쇄한 후 80% 에탄올을 사용하여 상온에서 2시간씩 3회 교반하여 추출한 후 상등액을 감압 농축하여 추출물을 제조하였다.<sup>16)</sup> 본 실험에서 phenanthrene에 의한 DNA 손상에 대한 인삼추출액의 억제효과를 살펴보기 위해 사용된 인삼추출액의 농도는 3, 5, 8  $\mu$ g/ml이었다.

### Phenanthrene 처리

임파구 DNA에 phenanthrene에 의한 손상을 입히기 위해 phenanthrene의 최종농도가 각각 1, 5, 20, 30  $\mu$ M이 되도록 한 후 임파구 세포와 0°C에서 5 분간 반응시켰으며, 대조군에는 PBS만을 처리하였다. 또, 각 시험시료의 전처리가 phenanthrene에 의한 임파구 DNA 손상에 미치는 영향을 살펴보기 위해 각 시험시료를 임파구 세포와 함께 37°C에서 30 분간 먼저 반응시킨 후 30  $\mu$ M phenanthrene을 처리해 0°C에서 5 분간 반응시켰다. 뿐만 아니라 시험시료를 phenanthrene과 동시에 처리하거나 phenanthrene과 임파구 DNA의 반응이후에 처리함으로써 시험시료의 전처리 뿐만 아니라, 동시처리와 후처리가 phenanthrene에 의한 임파구 DNA 손상에 미치는 효과를 분석하였다. 동시처리는 시험시료와 30  $\mu$ M phenanthrene을 동시에 임파구 세포에 넣어 0°C에서 5 분간 반응시켰으며, 후처리의 경우 30  $\mu$ M phenanthrene을 먼저 임파구와 0°C에서 5 분간 반응시킨 후 시험시료를 처리하여 37°C에서 30 분간 반응시켰다. 시험시료로 ascorbate를 사용하여 phenanthrene에 의한 DNA 손상에 대한 억제효과를 살펴보기 위해 사용된 ascorbate 농도는 0.5, 1, 3, 5, 및 8  $\mu$ g/ml이었다.

### Comet assay를 이용한 임파구 DNA의 산화적 손상 측정

Phenanthrene에 의한 임파구 DNA의 손상과 각각의 시험시료 처리로 인한 DNA 손상 억제 효과를 확인하기 위해 Singh 등의 방법<sup>17)</sup>을 변형해 comet assay를 실시하였다. 분리된 임파구를 0.7% low melting agarose gel (LMA) 75  $\mu$ l와 혼합한 후, 1% normal melting agarose gel (NMA)로 precoating된 슬라이드위로 임파구와 LMA의 현탁액이 잘 분산되게 한 후 커버 글라스로 덮어 4°C에 약 30 분간 보관하였다. Gel이 굳으면 커버 글라스를 제거하고 그 위에 다시 0.7% LMA용액 100  $\mu$ l를 슬라이드 위에 첨가한 후 다시 커버 글라스를 덮어 4°C에서 30 분간 방치하여 gel을 굳혔다. Gel이 굳으면 커버 글라스를 제거하고 암조건에서 냉장 보관해두었던 alkali lysis buffer (2.5 M NaCl, 100 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 10 mM Tris-HCl, 1% Triton X-100, 10%

DMSO, 1% laurylsarcosinate, pH 10)에 담그고, 4°C에서 1 시간 동안 반응시켜 세포단백질을 제거하였다. 세포단백질 제거가 끝나면 슬라이드를 alkaline 용액 (300 mM NaOH, 10 mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH>13)이 포함된 전기이동 탱크에 넣고 20 분 동안 unwinding시킨 후 25 V, 300 mA에서 20 분간 전기이동을 실시하였다. 전기이동 후 슬라이드를 0.4 M Tris-HCl (pH 7.5) 용액으로 3 번씩 세척하여 중성화하였으며 다시 5 분간 고정시켰다.

### Image analysis

Comet image 분석을 위해 50 uM ethidium bromide로 핵을 형광 염색하고 커버 글라스로 덮은 뒤 형광현미경 (Leica DM 2000, Germany)을 통해 관찰하였다. CCD camera (Hitachi, Japan)로 촬영하여 각 세포의 세포핵 이미지를 Komet 5.5 comet image analyzing system (Kinetic Imaging, UK)으로 분석하였다. Comet assay에 의한 임파구 DNA 손상 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리 (tail length, TL) 값에 tail % DNA를 곱해준 tail moment (TM) 값을 측정하여 나타내었다. 각 시료를 duplicate하여 각 75 개씩 총 150 개의 임파구에서 DNA 손상 정도를 측정하였다.

### 활성산소종의 정량적 측정

세포내 활성산소종을 정량적으로 측정하기 위하여 DCFH-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate) 방법을 사용하였다. 전혈 20 ml을 PBS 20 ml에 섞어 histopaque 1077 40 ml 위에 올렸다. 상온에서 30 분 동안 500×g로 원심분리 한 후 histopaque 1077의 경계면 위에 있는 임파구를 모아 PBS 6 ml에 넣어 두 번 세척하였다. 여러 농도의 인삼추출물을 처리한 임파구에 phenanthrene 30 uM을 처리해 얼음 위에서 5분간 손상을 입혔다. 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) 2 uM을 37°C에서 30 분간 처리한 7×10<sup>4</sup> 개의 세포에 PBS를 넣고 세척하였다. 세포내 활성산소종의 존재 여부를 형광분석기(GloMax<sup>®</sup>-Multi Detection System; Promega, Madison, WI)를 사용하여 측정하였다.

### 통계처리

SPSS-PC+ 통계 패키지를 사용하여 모든 분석 자료를 처리하였다. 각 시료를 처리한 각 150 개씩의 세포에서 측정된 DNA 손상 (tail moment; TM)의 평균값과 표준오차를 구했다. 각 농도에서 DNA 손상 억제 정도를 비교하기 위해 시료별로 one-way 분산분석 (ANOVA)을 시행하였고 각 농도 간의 차이는 Duncan test로 사후 검증하였으며 통계적 유의

성은 모두  $p < 0.05$  수준에서 평가했다.

## 결과 및 고찰

본 연구에서는 다환방향족 탄화수소의 일종인 phenanthrene에 의해서 임파구 DNA의 산화적 손상이 증가함을 comet assay 방법으로 확인하였으며, ascorbate와 인삼추출액을 처리하였을 때 DNA 손상이 억제됨을 확인할 수 있었다.

Fig. 1에는 다환방향족 탄화수소 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 계열인 phenanthrene의 구조가 제시되어 있다. Fig. 2에서 알 수 있듯이 phenanthrene의 처리농도를 증가시켜 가면서 임파구와 반응시킨 결과 phenanthrene 농도에 의존적으로 임파구 DNA의 손상도가 증가하였다. 1 uM phenanthrene을 처리한 경우에는 DNA 손상도가 약 7% 정도로 PBS를 처리한 대조군과 거의 유사하였다. 그러나 5 uM phenanthrene을 처리한 경우 DNA 손상도가 약 14% 정도로서 대조군에 비해 약 2 배의 손상증가를 보였다. 30 uM phenanthrene을 처리했을 때에는 대조군에 비해 DNA 손상이 약 7 배 정도 증가함을 볼 수 있었다.

Phenanthrene을 처리하기 전 미리 ascorbate를 다양한 농도로 전처리하여 DNA 손상의 억제여부를 살펴본 결과 ascorbate의 농도가 증가할수록 phenanthrene에 의한 DNA 손상이 감소함을 볼 수 있었다 (Fig. 3). Phenanthrene 30 uM을 처리했을 때 DNA 손상이 약 53%였으나 ascorbate 8 µg/ml을 처리했을 때 DNA 손상의 정도가 약 15%로 크게 감소했다. Comet assay를 이용하는 실험에서 ascorbate는 임파구 DNA의 손상이 산화적 손상을 간접적으로 확인할 때 많이 사용되고 있다. Ascorbate에 의한 DNA의 산화적 손상의 억제는 ascorbate의 활성산소 소거능에 의한 것으로 알려져 왔다.<sup>18)</sup> 또한 ascorbate는 산화스트레스로부터 세포를 보호해 줄 뿐만 아니라 지방, 단백질, DNA를 포함하는 거대분자의 손상과 암 발생을 억제할 수 있다고 보고되어 있다.<sup>19)</sup>

인삼추출액을 먼저 임파구에 전처리한 후 phenanthrene에 의

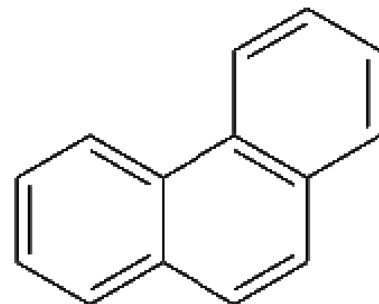


Fig. 1. Phenanthrene structure.

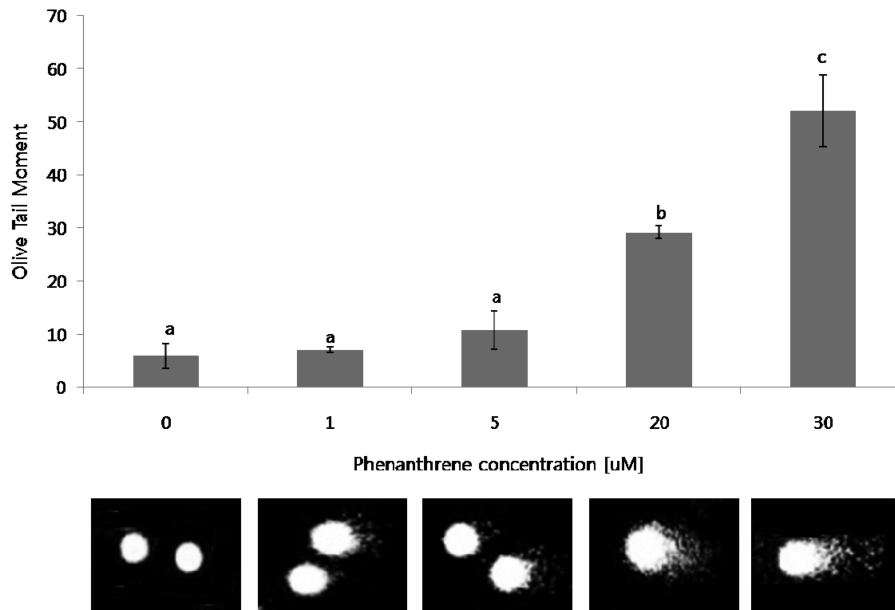


Fig. 2. Phenanthrene-induced oxidative DNA damage in lymphocytes. Those with the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ).

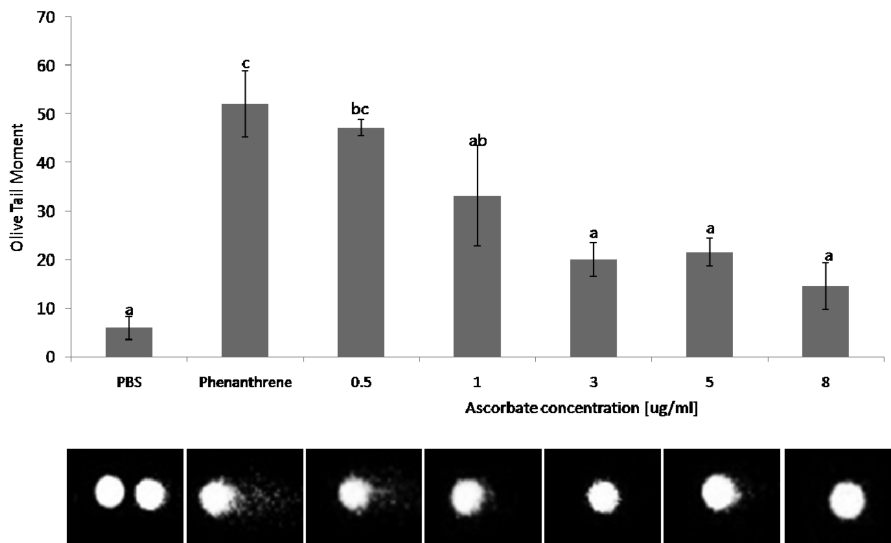
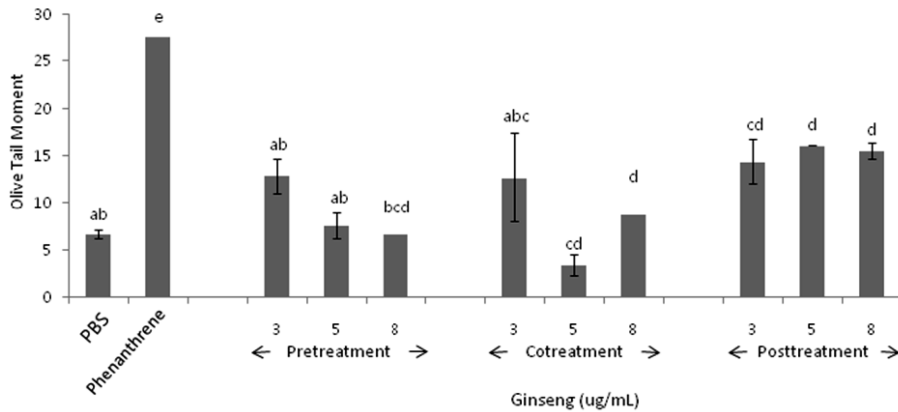


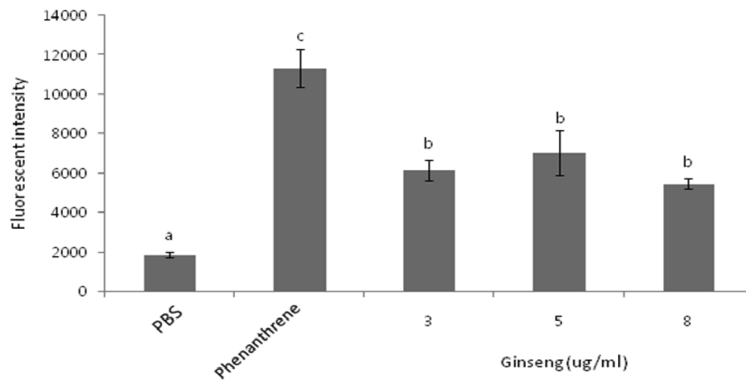
Fig. 3. Protective effect of ascorbate on the phenanthrene-induced oxidative DNA damage in lymphocytes. Those with the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ).

한 DNA 손상의 억제효과를 살펴보았다. 그 결과 phenanthrene에 의한 DNA 손상이 인삼추출액 전처리에 의하여 현저하게 감소되었다(Fig. 4). 이러한 결과는 인삼추출액이 phenanthrene에 의한 DNA 손상을 예방할 가능성을 보여준다. 인삼추출액을 phenanthrene과 동시 처리하거나 후처리한 경우에도 phenanthrene에 의한 DNA 손상이 크게 감소되었다. 따라서 인삼추출액은 phenanthrene에 의한 DNA 손상을 예방할 수 있을 뿐만 아니라 억제하며 치료할 수 있는 가능성이 있음을 예상할 수 있다.

Phenanthrene에 의한 DNA 손상이 활성산소종 생성에 의한 산화적 손상인지 확인하기 위하여 2,7-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA)를 사용하여 생성된 활성산소종의 농도를 측정하였다. 그 결과 인삼추출액이 전처리된 경우 인삼추출액의 농도에 의존하여 활성산소종 생성이 크게 감소하였다(Fig. 5). 300 uM phenanthrene에 의한 활성산소 생성량은 약 11,000이었으나 인삼 추출액 3  $\mu\text{g/ml}$ 를 전처리한 경우 활성산소 생성량이 약 50% 정도 감소하였다. 이러한 결과는 phenanthrene에 의한 DNA 손상이 활성산소종의 생성에 의



**Fig. 4.** Effect of pretreatment, cotreatment and posttreatment of ginseng extract on the phenanthrene-induced DNA damage. Those with the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 5.** Suppressive effects of ginseng extracts on the reactive oxygen species production in phenanthrene-induced DNA damage. Those with the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

한 산화적 손상임을 뜻한다.

활성산소종 생성과 연관된 것으로 보이는 DNA의 산화적 손상이 인삼 추출액 처리에 의하여 크게 감소하는 것으로 보아 인삼추출액내의 항산화성분이 phenanthrene에 의한 DNA의 산화적 손상을 방지할 수 있었을 것으로 예상할 수 있다.

항산화효능을 비롯한 인삼의 우수한 약리적 효능은 세포수준과 동물 및 인체를 대상으로 폭넓게 연구되어 왔다. 인삼의 항산화효능으로 인해 배양세포내 활성산소의 생성이 감소되었으며, 근육, 혈관 내피세포, 간세포 및 췌장세포의 산화적 손상이 인삼성분 투여에 의해 방지됨이 알려져 있다.<sup>13)</sup> 또한 인삼은 암의 성장과 전이를 억제하는 역할을 할 것으로 생각되고 있다.<sup>20)</sup>

본 연구를 통하여 phenanthrene이 임파구 DNA에 산화적 손상을 일으킴을 알 수 있었으며 인삼의 항산화 효능이 phenanthrene에 의한 DNA의 산화적 손상을 억제할 수 있음을 알 수 있었다. Phenanthrene이 주요 대기 중 환경오염 물질로서 동물의 위, 폐, 피부에 암을 유발시키고 체액과 면

역체계에 영향을 미친다고 알려져 있다.<sup>21-23)</sup> Phenanthrene의 독성에 관한 분자수준 및 세포수준에서의 메커니즘이 분명히 밝혀지지는 않았으나, phenanthrene이 건강에 미치는 위해성은 증명되어져 왔다. 따라서 인삼추출액의 phenanthrene에 의한 임파구 DNA의 손상억제 효능은 환경오염으로 인한 인체건강 위해성을 억제시킬 수 있는 손쉬운 예방 방안으로 새롭게 주목 받을 수 있다.

### 인용문헌

1. Tarantini A, Maitre A, Lefebvre E, Marques M, Marie C, Ravanat JL, Douki T. Relative contribution of DNA strand breaks and DNA adducts to the genotoxicity of benzo[a]pyrene as a pure compound and in complex mixtures. *Mutat Res.* 671: 67-75 (2009)
2. Park JH, Mangal D, Frey AJ, Harvey RG, Blair IA, Penning TM. The aryl-hydrocarbon receptor (AhR) facilitates DNA strand breaks and 8-oxo-2'-deoxyguanosine formation by

- the aldo-keto reductase product benzo[a]pyrene-7,8-dione. *J Biol Chem.* 284: 29725-29734 (2009)
3. Pesch B, Kappler M, Straif K, Marczynski B, Preuss R, Rossbach B, Rihs HP, Weiss T, Rabstein S, Pierl C, Scherenberg M, Adams A, Kafferlein HU, Angerer J, Wilhelm M, Seidel A, Bruning T. Dose-response modeling of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with biomarkers of exposure and effect. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 16: 1863-1873 (2007)
  4. Fernandez-Luqueno F, Thalasso F, Luna-Guido ML, Ceballos-Ramírez JM, Ordoez-Ruiz IM, Dendooven L. Flocculant in wastewater affects dynamics of inorganic N and accelerates removal of phenanthrene and anthracene in soil. *J Environ Manage.* 90: 2813-2818 (2009)
  5. Tsai JC, Kumar M, Chang SM, Lin JG. Determination of optimal phenanthrene, sulfate and biomass concentrations for anaerobic biodegradation of phenanthrene by sulfate-reducing bacteria and elucidation of metabolic pathway. *J Hazard Mater.* 171: 1112-1119 (2009)
  6. Park EJ, Kang MH. Application of the alkaline comet assay for detecting oxidative DNA damage in human biomonitoring. *Korean J Nutr.* 35: 213-222 (2002)
  7. Woo SO, Kim SJ, Yum SS, Yim UH, Lee TK. Comet assay for the detection of genotoxicity in blood cells of flounder (*Paralichthys olivaceus*) exposed to sediments and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mar Pollut Bull.* 52: 1768-1775 (2006)
  8. Babazadeh Z, Razavi S, Tavalae M, Deemeh MR, Shahidi M, Nasr-Esfahani MH. Sperm DNA damage and its relation with leukocyte DNA damage. *Reprod Toxicol* in press. (2009)
  9. de Assis KR, Ladeira MS, Bueno RC, Dos Santos BF, Dalben I, Salvadori DM. Genotoxicity of cigarette smoking in maternal and newborn lymphocytes. *Mutat Res.* 679: 72-78 (2009)
  10. Park YK, Jeon EJ, Kang MH. Protective effect of flavonoids on lymphocyte DNA damage using comet assay. *Korean J Nutr.* 36: 125-132 (2003)
  11. Park EJ, Ryoo KK, Lee YB, Lee MY. Protective effect of electrolyzed reduced water on the paraquat-induced oxidative damage of human lymphocyte DNA. *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 48: 155-160 (2005)
  12. Park SK, Lee MY. Suppressive effects of various antioxidants on melamine-induced oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Mol Cell Toxicol.* 5(3): 243-249 (2009)
  13. Kim EH, Rhee DK. Anti-oxidative properties of ginseng. *J Ginseng Res.* 33: 1-7 (2009)
  14. Park BJ, Lim YS, Lee HJ, Eum WS, Park JS, Han KH, Choi SY, Lee KS. Anti-oxidative effects of *Phellinus linteus* and red ginseng extracts on oxidative stress-induced DNA damage. *BMB Rep.* 42: 500-505 (2009)
  15. Park SK, Kim YK, Youn HS, Lee MY. Application of nanotechnology to Korean black-red ginseng : solubility Enhancement by particle size reduction. *Mol Cell Toxicol.* 4: 52-60 (2008)
  16. Kong YH, Lee YC, Choi SY. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of phenolic compounds in *panax ginseng* C.A. Meyer. *J Ginseng Res.* 33: 111-114 (2009)
  17. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res.* 175: 184-191 (1988)
  18. Mozdarani H, Ghoraiean P. Modulation of gamma-ray-induced apoptosis in human peripheral blood leukocytes by famotidine and vitamin C. *Mutat Res.* 649: 71-78 (2008)
  19. Hwang WS, Park SH, Kim HS, Kang HJ, Kim MJ, Oh SJ, Park JB, Kim JB, Kim SC, Lee JY. Ascorbic acid extends replicative life span of human embryonic fibroblast by reducing DNA and mitochondrial damages. *Nutr Res Pract.* 2: 105-112 (2007)
  20. Choi CS, Kim KI, Hong HD, Choi SY, Lee YC, Kim KT, Rho JH, Kim SS, Kim YC. Phenolic acid composition and anti-oxidative activity of white ginseng. *J Ginseng Res.* 30: 22-30 (2006)
  21. Wang W, Nykamp J, Huang XD, Gerhardt K, Dixon DG, Greenberg BM. Examination of the mechanism of phenanthrenequinone toxicity to *Vibrio fischeri*: evidence for a reactive oxygen species-mediated toxicity mechanism. *Environ Toxicol Chem.* 28: 1655-1662 (2009)
  22. Kang HG, Jeong SH, Cho MH, Cho JH. Changes of biomarkers with oral exposure to benzo(a)pyrene, phenanthrene and pyrene in rats. *J Vet Sci.* 8: 361-368 (2007)
  23. Schober W, Lubitz S, Belloni B, Gebauer G, Lintelmann J, Matuschek G, Weichenmeier I, Eberlein-Konig B, Buters J, Behrendt H. Environmental polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) enhance allergic inflammation by acting on human basophils. *Inhal Toxicol.* 1: 151-156 (2007)