J. Fd Hyg. Safety 12(4), 315 - 320(1997)

인삼지용성성분의 지질과산화 및 산화적 DNA손상에 대한 억제효과

허문영†
강원대학교 약학대학

Protective effect of Ginseng Petroleum Ether Extract Against Lipid Peroxidation and Oxidative DNA Damage

Moon Young Heo†
College of Pharmacy, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

ABSTRACT — Panax ginseng C.A. Meyer has been extensively used in the traditional oriental medicine as a restorative, tonic and prophylatic agent. This study was devised to develop a chemopreventive agent from panax ginseng to be able to suppress the genotoxicity and oxidative damage by reactive oxygen species, which are involved with cancer or aging. Ginseng petroleum ether extract (GPE) and one of its fraction, P2, showed an antioxidative effect on the lipid peroxidation of ethyl linoleate with Fenton's reagents and free radical scavenging effect to 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazil (DPPH) radical generation. They also showed the suppressive effect of H_2O_2 or KO_2 induced DNA damage by single cell gel electrophoresis (SCGE). Results from our study indicate that GPE and P2 are capable of protecting lipid peroxidation, and oxidative DNA damage. Therefore, GPE and P2 may be useful chemopreventive agents which are involved with cancer and aging.

Key words □ Panax ginseng C.A. Meyer, Ginseng petroleum ether extract (GPE), Lipid peroxidation, Single cell gel electrophoresis(SCGE), Oxidative DNA damage

고려인삼(Panax ginseng C.A. Meyer, 이하 인삼이라 칭함)은 여러 병증의 예방과 치료의 목적으로, 또는 보약재로서 사용되어 왔다. 인삼성분에 대한 과학적 연구는 유효성분으로서 사포닌의 효능이 잘 알려져 있으며, 그후 사포닌을 중심으로 한 많은 연구가 수행되어 왔다.[1-3] 최근에는 인삼의 사포닌성분 이외에 인삼지용성성분에 대한 관심이 커지고 있다. 인삼의 지용성성분에는 정유성분, 폴리아세틸렌성분, 페놀성 성분 및 알카로이드 성분들이 함유되어 있다. 이중에서 항노화 및 암예방에 관련이 깊은 페놀성분 및 폴리아세틸렌화합물들의 항산화 효과가 일부 밝혀져 있다.[4]

본 연구에서는 그동안의 연구[5,6]에서 유전독성억제효과를 나타내었던 인삼의 지용성성분을 대상으로하여 *in vitro*에서의 항산화효과(antioxidant effect)와 프리라디칼소거작용(free radical scavenging effect)을 검토하는 한편, H_2O_2 및 KO_2의 DNA에 대한 산화적 손상 및 세포독성에 미치는 영향을 연구하여 인삼의 지용성성분이 항산화효과에 의한 산화적 DNA손상에 억제효과를 나타내었기에 이에 보고하는 바이다.

† Author to whom correspondence should be addressed.

재료 및 방법

인삼석유에텔추출물의 제조와 세부분획

백삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)을 가루로 한 다음 600 g에 petroleum ether 3 L를 넣고 3일간 실온에서 추출후 감압농축시켜 인삼석유에텔추출물(GPE)로 하였다. GPE를 petroleum ether 소량에 녹이고 petroleum ether: ether 용매계열을 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5 순으로 용출시키는 silicagel column chromatography에 의한 partition을 실시하였으며, TLC확인(pet. ether: ether = 7:3)에 의하여 단일spot를 나타내는 분획 5가지(P1-P5)를 얻었으며 이 중에서 유전독성억제효과를 가장 크게 나타내는 P2를 실험대상으로 하였다.[7]

세포 및 배양방법

식품의약품안전본부 독성연구소로부터 분양받아 강원대

약대 액체질소탱크에 있는 Chinese Hamster Lung(CHL) cell을 사용하여 수시로 계대하여 실험목적에 맞게 배양하였다. 세포배양은 10% FBS(GIBCO), 1% glutamine(GIBCO), 1% penicillin-streptomycin(GIBCO) 함유 MEM(GIBCO)배지를 사용하였다.

항산화효과(Antioxidative effect)

검체들의 지질과산화 억제효과를 측정하기 위하여 Fenton's reagent를 이용하여 관찰하였다. 2% Sodium dodecyl sulfate, 0.79 mM potassium chloride, 0.25 mM Trizma (pH 7.4), 1 μM $FeCl_2$가 되도록 증류수에 첨가하여 반응액을 만들고 이 용액 4.89 m*l*에 0.025 mM H_2O_2를 용해시켰다.

이 용액에 10 μ*l* ethyl linoleate를 첨가한 후 미리 만들어 보관한 검체의 stock solution을 소정의 농도로 0.1 m*l*씩 분주하였다. 이 모든 양이 각 sample당 5 m*l*가 되도록 하였다. 만들어진 검액은 voltex mixer로 즉시 혼합하고 lipid peroxidation system에 어떠한 빛의 영향도 차단시키기 위해 aluminum foil로 감싸서 16h 동안 55°C에서 incubation 시켰다. 16h이 지난 후 각각의 sample에 50 μ*l* 4% BHT ethanol solution을 분주하여 산화를 정지시킨 다음 항산화 정도를 TBA법[8]으로 535 nm에서 측정하였다.

프리라디칼소거작용(Free radical scavenging effect)

DPPH(1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazil)는 분자내 radical을 함유하고 있는데 이것이 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만든다. 이때 DPPH의 거동은 hydroxyl radical과 유사하여 프리라디칼소거실험에 활용된다. 본 실험에서는 60 μM DPPH 2 m*l*에 sample의 소정농도의 용액 2 m*l* 가하고 5분간 섞고 30분간 방치후 520 nm에서 측정하였다.[9]

Single cell gel electrophoresis(SCGE)

CHL cell을 배양하여 SCGE 시험을 실시하였다. 양성 대조 물질로는 H_2O_2와 KO_2를 사용하였다. 실험은 CHL cell 5×10^4개를 culture dish(10φ)에 심고, 24hr 후에 양성대조물질인 H_2O_2 또는 K_2O을 10 μ*l*와 DMSO 10 μ*l*를 투여하였다. 24hr 후 culture dish에 trypsin 2 m*l*을 넣어 cell을 harvest하여 test tube에 취하였다. 2000 rpm으로 원심분리후 PBS(without Cl^+, Mg^{2+})로 세척후 다시 2000 rpm으로 원심분리하였다. 상층액을 버리고 각각에 0.5%-LMPA(low melting point agarose)를 1 m*l*를 가해준 뒤 voltex를 각각 1 min씩 해준다. 0.65%-NMPA(normal melting point agarose) 130 μ*l*를 미리 입힌 slide(fully frosted)에 이 액 75 μ*l*를 떨어 뜨린 후 cover slide를 덮는다. 냉장고에서 약 15분간 굳힌 뒤 cover slide를 제거하고 그 위에 다시 0.5%-LMPA를 100 μ*l*를 떨어뜨린 후 cover slide로 덮고 냉장고에서 15분간 굳힌다. Cover slide를 제거한후 lysis buffer(2.5 M NaCl, 100 mM Na_2EDTA, 10 mM Tris, pH 10, 10% DMSO, 1% Triton X-100)에 담가서 약 30분간 lysis시킨다. 그 후 electrophoresis buffer(300 mM NaOH, 1 mM Na_2EDTA, pH 13)에 15분간 담가 정치하였다. Electrophoresis apparatus에 slide를 양극쪽으로 배열한 뒤 25 V, 250 mA 정도에서 15분간 electrophoresis 해준다. Slide를 꺼내 0.4 M tris(pH 7.5)에 15분간 담가 중화하였다. Tray에 걸어 충분히(15분) 말린 후 ethidium-bromide(20 μg/m*l*)를 50 μ*l*를 각각에 떨어뜨린 후 515~560 nm의 excitation filter와 590 nm의 barrier filter를 이용하여 형광현미경으로 관찰하였다. 검체를 양성대조물질과 동시투여하거나 단독투여하여 검체의 유전독성 억제효과를 평가하였으며 5% 이상의 DNA damage 를 나타내는 type II 이상의 세포를 양성으로 하였다.[10]

세포독성(Cytotoxicity)

CHL cell에 있어서 H_2O_2 또는 KO_2의 세포독성에 대한 검체들의 세포독성을 MTT법에 따라 microplate reader로 측정하였다. 이때 CHL cell은 well당 25,000개로 하고 배지 80 μ*l* 중에서 24시간 배양후 검체 10 μ*l*를 가하고 CO_2 incubator에서 20시간 더 배양한 후 MTT시약 15 μ*l*를 가하고 4시간 배양 후 DMSO를 200 μ*l*를 가하고 녹인 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.[11]

통계처리

실험을 통해 얻어지는 data들은 Student's-t test를 사용하여 유의성 검정을 행하였다.

결 과

인삼지용성성분의 분리

백삼(Panax ginseng C.A. Meyer, 4년근)을 가루로 한 다음 petroleum ether로 24시간 추출후 감압농축시켜 인삼석유에텔추출물(GPE)로 하였다. 이때 GPE의 수율은 평균 2.24%였다. 또한 GPE를 petroleum ether 소량에 녹이고 petroleum ether:ether 용매계열 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5 순으로 용출시키는 silicagel column chromatography에 의한 partition을 실시하여 P1, P2, P3, P4, P5의 5개의 분획을 얻었다. 이중에서 본인 등의 실험을 통해 유전독성억제활성이 가장 우수한 P2를 선택하여 GPE 및 Vit.E와 활성을 비교하였다. 한편, P2를 NMR과 GC/MS 결과, aliphatic ketone류의 혼합물(한림대 화학과 전종갑교수, personal com-

munication)이었다. 주성분은 분자량 330과 386의 두개물질이 함유되어있는 혼합물이었으며(Data not shown), 향후 계속적으로 분리동정이 필요한 물질이라고 판단되었다.

항산화효과

인삼석유에텔추출물(GPE)와 분획성분 P2의 항산화효과를 Table 1에 나타내었다. 각 시료의 항산화효과는 검액대신 용매(DMSO)만을 처리했을 때의 흡광도를 시료군과 비교하였다. GPE와 P2는 Vit.E보다 훨씬 강한 항산화효과를 나타내었다. Vit. E의 IC_{50}는 759.7 μg/m*l*였으나 GPE는 37.1 μg/m*l*, P2는 41.6 μg/m*l*였다. 한편, GPE의 분획성분인 P2는 GPE보다 활성이 크지 않았으며 비슷한 정도의 효과를 나타내었다.

프리라디칼소거작용

인삼석유에텔추출물(GPE)와 분획성분 P2의 프리라디칼소거효과를 Table 2에 나타내었다. 각 시료의 프리라디칼소거작용은 검액대신 용매(DMSO)만을 처리했을 때의 흡광도를 시료군과 비교하였다. Table 1의 항산화효과와 마찬가지로 GPE와 P2는 Vit.E보다 훨씬 강한 항산화효과를 나타내었다. Vit.E의 IC_{50}는 182.0 μg/m*l*였으나 GPE는 26.3 μg/m*l*, P2는 28.2 μg/m*l*였다. 한편, GPE의 분획성분인 P2는 GPE보다 활성이 크지 않았으며 비슷한 정도의 효과를 나타내었다.

Table 1. The antioxidative effect of GPE, P2, and Vit. E

Treatment (μg/m*l*)		$^1OD_{535nm}$ Mean±S.D.	% Inhibition[2]	IC_{50}
Positive3		0.319±0.010		
GPE	10	0.234±0.000**	26.6	
	50	0.131±0.008**	58.9	37.1
	100	0.095±0.001**	70.2	
	500	0.067±0.010**	78.9	
P2	10	0.265±0.022**	16.9	
	50	0.164±0.001**	48.5	41.6
	100	0.088±0.001**	72.4	
Vit.E	10	0.288±0.001**	9.7	
	50	0.272±0.002**	14.7	>500
	100	0.201±0.007**	36.9	
	500	0.174±0.011**	45.4	

[1] n=3, Significantly different from the positive control group (Student's t-test)
* P<0.05, **P<0.01
[2] % Inhibition = [OD positive - OD sample] / OD positive × 100
[3] Positive control was treated with solvent(DMSO)

Table 2. The free radical scavenging effect of GPE, P2, and Vit.E

Treatment (μg/m*l*)		$^1OD_{520nm}$ Mean±S.D.	% Inhibition[2]	IC_{50}
Positive[3]		0.348±0.017		
GPE	10	0.200±0.015**	42.5	26.3
	50	0.166±0.011**	52.2	
	100	0.124±0.005**	64.3	
	500	0.072±0.006**	79.3	
P2	10	0.204±0.011**	41.3	28.2
	50	0.164±0.021**	52.8	
	100	0.127±0.005**	63.5	
Vit.E	10	0.309±0.007*	11.2	>100
	50	0.319±0.003*	8.3	
	100	0.205±0.002**	41.0	

[1] n=3, Significantly different from the positive control group (Student's t-test)
* P<0.05, **P<0.01
[2] % Inhibition = [OD positive - OD sample]/OD positive × 100
[3] Positive control was treated with solvent(DMSO).

산화적 DNA 손상에 미치는 영향

인삼석유에텔추출물(GPE)와 분획 P2에 대하여 H_2O_2유도 또는 KO_2유도 DNA손상에 미치는 효과를 COMET assay로 실시하여 Table 3에 나타내었다. 활성산소유도제로서 H_2O_2와 KO_2를 선정한 이유는 H_2O_2는 OH radical을 생성하

Table 3. Protective effect of GPE, P2 and Vit.E on H_2O_2- or KO_2-induced oxidative damage in CHL cells

Treatment (μg/m*l*)		Damaged cell/100 cells[1]	
		H_2O_2, 5×10^{-5} M Mean±S.D.	KO_2, 5×10^{-4} M Mean±S.D.
GPE	0	25.5±0.70	22.5±2.12
	10	18.0±1.41*	20.0±4.24
	50	18.0±2.82	22.0±0.00
	100	18.0±0.00**	20.0±1.41
P2	0	25.5±2.12	26.0±4.24
	10	19.5±2.12	21.0±1.41
	50	18.5±2.12	18.5±0.70
	100	20.5±2.12	21.0±0.00
	500	20.0±1.41	18.5±0.70
Vit.E	0	26.0±1.41	23.5±2.12
	0.43	20.5±0.70*	21.0±1.41
	4.3	17.5±2.12*	17.5±2.12
	43	17.5±0.70*	13.5±0.70*

[1] n=2, Significantly different from the positive control group (Student's t-test)
* P<0.05, **P<0.01

Table 4. Cytotoxicity of GPE, P2 and Vit. E in CHL cells

Treatment	(μg/ml)	OD_{570nm} Mean±S.D.
GPE	0	0.103±0.003
	50	0.104±0.000
	100	0.106±0.003
	250	0.106±0.000
	500	0.107±0.000
P2	0	0.097±0.002
	50	0.097±0.000
	100	0.100±0.003
	250	0.100±0.001
	500	0.101±0.003
Vit.E	0	0.099±0.001
	0.43	0.100±0.002
	4.3	0.106±0.002*
	43	0.121±0.003**

[1] n=3, Significantly different from the positive control group (Student's t-test)

는 중요한 물질이며 ($H_2O_2+e^- \rightarrow H^+OH$)이며, KO_2는 super- oxide(O_2^-)의 결정성 염으로서 실험실적으로 용액 중 쉽게 O_2^-를 생성하는 물질로서 이들 화학종들이 생체내에서 암과 노화에 관련이 깊기 때문이다.

GPE와 P2는 각각의 처리농도에서 H_2O_2에 대하여 20~30% 정도의 산화적 DNA손상을 억제시켰으며 GPE의 경우에 일부 농도에서 유의성이 있는 감소를 나타내었다. 한편 KO_2에 대해서는 2~30% 정도의 억제효과를 나타내었으나 유의성은 없었다. 한편, 비교물질로서 사용한 Vit. E는 GPE 및 P2보다 낮은 농도에서 억제효과가 다소 높은 결과를 나타내었다. 그러나 항산화효과와 프리라디칼 소거작용에서 Vit E보다 활성이 컸던 GPE와 P2는 체세포를 사용한 DNA손상의 억제효과에서는 활성이 낮게 나타났다.

세포독성

인삼석유에텔추출물(GPE)와 P2의 CHL cell에 대한 세포독성을 Table 4에 나타내었다. GPE, P2 및 Vit. E 모두 처리농도증가에 따른 세포독성을 나타내지 않았다. 그러나 Vit. E는 4.3 μg/ml, 43 μg/ml에서 유의성있는 세포생존율의 증가를 나타내었다.

고 찰

최근에 인삼의 여러 성분 중에서 사포닌성분이외에 관심의 대상이 되는 성분은 인삼의 지용성성분으로서 인삼중 약 2% 이하 함유되어 있다. 이 중에는 항산화작용을 갖는 페놀성화합물과 폴리아세틸렌화합물 및 기타 정유성분이 알려지고 있다. 페놀성분으로서 홍삼의 에텔가용성분획중 maltol을 비롯하여 salicylic acid, vanillic acid 등이 분리동정되었다.[12] 또한, GC/MS에 의해 cinnamic acid, m-coumaric acid, syringic acid, ferulic acid, esculetin, caffeic acid 등이 확인된 바도 있다.[13] 한편, 폴리페놀화합물인 panaxydol, panaxynol 및 panaxytriol의 사염화탄소에 의한 간의 지질과산화억제효과가 보고된 바 있다.[14]

본 연구에서는 인삼지용성성분의 항산화작용과 프리라디칼소거작용 및 이에 의한 산화적 유전독성의 억제효과 등을 검토하였다. GPE와 P2의 항산화효과는 Vit.E 보다 강한 활성을 나타내었다. 한편, 프리라디칼소거작용에 있어서도 GPE와 P2는 Vit.E보다 높게 나타났다. H_2O_2 또는 KO_2 유도 DNA손상에 대해서도 GPE와 P2는 억제효과를 나타내었다. 한편 GPE와 P2의 세포독성은 CHL cell에서는 나타나지 않았다.

Reactive oxygen species(ROS)에 의한 oxidative DNA damage는 암(cancer)과 노화(aging)와 관련이 깊다. 이들은 point mutation이나 deletion을 포함하는 돌연변이를 nuclear DNA에서 일으키며 mitochodrial DNA에서의 oxidative damage는 노화세포에서의 에너지결핍을 일으켜 나이에 따라 돌연변이의 축적이 일어난다. 따라서 DNA수복의 결핍은 세포사를 일으키고 이것은 인접세포들에 있어서 carcinogenesis로의 촉진적 자극을 일으키게 한다.[15]

산화적 DNA손상을 통하여 발암의 전단계에서 일어나는 돌연변이(mutation)나 염색체 손상(chromosome aberration) 등의 유전독성(genotoxicity)에 대한 억제적으로 작용하는 물질들은 암의 initiation, promotion 및 progression 단계에서 항산화반응을 통하여 세포내 대사의 modulation, DNA 반응성 물질들의 blocking, DNA replication이나 DNA repair modulation 작용과 같은 기전으로 돌연변이나 염색체 손상 및 암을 예방할 수 있는 것으로 기대되고 있다.[16]

또한, 이러한 항산화성 유전독성 억제제들은 세포독성을 근거로 한 항암제와는 달리, 그 자체로서는 세포독성 및 유전독성이 거의 없기 때문에 인체에 안전하게 사용될 가능성이 높으며, cell transformation이나 cell proliferation 등에 억제적으로 작용하여 항암제의 보조요법제나 항암제나 방사선 투여에 의한 2차 암의 예방 등에도 사용 가능성을 보여주고 있다. 또한, 노화의 억제제로서의 가능성도 높다.

이와 같은 결과들을 종합해볼 때 인삼지용성성분인 GPE와 P2는 항산화활성과 프리라디칼소거작용을 가지고 있으며, H_2O_2 또는 KO_2유도 DNA손상에 대해서도 억제적으로 작용하는 것으로 판단되었다. 따라서 인삼의 지

용성 성분(일명 인삼유)은 산소프리라디칼들에 의한 산화적 손상에 억제적으로 작용하는 기전을 활용하여 항노화, 암예방제로서의 응용가능성이 높은 물질로 보인다. 향후 인삼지용성성분의 기지물질과 함께 미지물질도 분리동정하여 보다 깊이 있는 항산화성물질의 구명도 필요하다고 본다.

결 론

인삼지용성성분(GPE와 P2)의 항산화작용과 프리라디칼소거작용 및 이에 의한 산화적 유전독성억제효과 등을 검토하였다. GPE와 P2의 항산화효과는 Vit. E 보다 강한 활성을 나타내었다. 한편, 프리라디칼소거작용에 있어서도 GPE와 P2는 Vit. E 보다 높게 나타났다. H_2O_2 또는 KO_2유도 DNA손상에 대해서도 억제적으로 작용하였다. 한편, GPE와 P2는 CHL cell에서 세포독성을 나타내지 않았다. 따라서 인삼지용성성분인 GPE와 P2는 항산화활성과 프리라디칼소거작용을 가지고 있으며 H_2O_2 또는 KO_2유도 DNA손상에 대해서도 억제적으로 작용하여 세포의 산화적손상을 억제하여 산화적 스트레스에 의한 노화와 암에 대한 예방제로서의 응용가능성이 높은 물질로 보인다.

감사의 글

본 논문은 한국과학재단 핵심전문연구비(과제번호 951-0711-063-2)지원으로 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

국문요약

인삼지용성성분의 항산화작용과 프리라디칼소거작용 및 이에 의한 산화적 유전독성억제효과등을 검토하였다. 인삼지용성성분(GPE)와 분획성분 P2의 항산화효과는 Vit. E 보다 강한 활성을 나타내었다. 한편, 프리라디칼소거작용에 있어서도 GPE와 P2는 Vit. E 보다 높게 나타났다. 또한, H_2O_2 및 KO_2유도 DNA손상에 대하여 억제적으로 작용하였다. 한편, GPE와 P2는 세포독성을 나타내지 않았다. 이와 같은 결과들을 종합해볼 때 인삼지용성성분인 GPE와 P2는 항산화활성과 프리라디칼소거작용을 가지고 있으며, H_2O_2 또는 KO_2유도 DNA손상에 대해서도 억제적으로 작용하며 세포독성도 나타나지않았다. 또한, 분획성분 P2를 NMR과 GC/MS결과, aliphatic ketone류의 혼합물로서 주성분은 분자량 330과 386의 물질이 함유되어있는 혼합물이었으며 향후 계속적으로 분리동정이 필요한 물질로 판단되었다.

참고문헌

1. 주충노: 생화학 측면에서 본 고려인삼의 효능, 한국인삼학회지, **7**, 193-214 (1983).
2. Park, J.K. and Park, K.H.: Effect of ginseng saponin on DNA strand breaks and replication inhibition by benzo(a) pyrene in CHO-K1 cells, *Korean J. Ginseng Sci.*, **16**, 210-216 (1992).
3. Kim, C. and Yoon, S.R.: Cytotoxic effect radioprotective ginseng protein fraction on CHO-K1 cells, *Yakhak Hoeji*, **32**, 313-318 (1988).
4. 한국인삼연초연구소: 고려인삼, 대전, pp. 68-64 (1994).
5. 최성규, 김천호, 허문영: 인삼석유 에텔 추출물이 benzo (a)pyrene 에 의해 유도된 소핵생성 억제효과, 약학회지, **35**, 466-472 (1991).
6. 최성규, 허문영: 인삼석유 에텔 추출물이 흰쥐에서 여러 발암성물질에 의해 유도된 소핵생성의 억제효과, 약학회지, **36**, 334-340 (1992).
7. 허문영: 인삼지용성성분의 유전독성억제효과와 작용기전, 과학재단연구보고서, 951-0711-063-2 (1997).
8. Ohtka, H., Ohishi, N. and Yaki, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.*, **95**, 351-358 (1979).
9. Fugita, Y., Uera, I., Morimoto, Y., Nakajima, M., Hatano, C. and Okuda, T.: *Yakugaku Zasshi*, **108**, 129 (1988).
10. Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., and Schneider, E. L.: A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells, *Experimental Cell Research*, **175**, 184-191 (1988).
11. Cole, S.P.C.: Rapid chemosensitivity testing of human lung tumor cells using the MTT assay, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **17**, 259-263 (1986).

12. 한병훈: 인삼의 비사포닌성분에 관한 연구, 한국인삼학회지, **15**, 74-78 (1991).
13. Kim, H.Y., Lee, Y.H. and Kim, S.I.: *Korean Biochem. J.*, **22**, 12 (1989).
14. 김만욱: 인삼연초연구소 보고서(1983).
15. Ames, B.N.: Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radical and degenerative diseases, *Science*, **221**, 1256-1246 (1983).
16. Flora, S. and Ramel, C.: Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis, Classification and overview, *Mutation Res.*, **202**, 285 (1988).