

## 인삼 석유에테르 추출물이 흰쥐에서 여러 발암성물질에 의해 유도된 소핵생성의 억제효과

최성규 · 허문영\*\*

동아제약주식회사 중앙연구소, \*강원대학교 약학대학

(Received June 27, 1992)

### Anticlastogenic Effect of Petroleum Ether Extract of *Panax ginseng* Against Carcinogens-induced Micronuclei in Mice

Sung Gyu Choi and Moon Young Heo\*\*

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

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

**Abstract**—Ethanol, total saponin and petroleum ether extract of *Panax ginseng* C.A. Meyer were tested for their anticlastogenic effects against induction of micronuclei by cyclophosphamide and benzo(a)pyrene in mice. Ginseng petroleum ether extract (GPEE) showed the highest suppressive effect among three extracts. GPEE was also tested to compare their anticlastogenic effect against several well-known carcinogens: such as mitomycin C, 7, 12-dimethyl benzo(a)anthracene, ethyl methane sulfonate, dimethylnitrosamine and busulfan. GPEE showed the anticlastogenic effect against most of carcinogens, although there were no significant effects against 7, 12-dimethyl benzo(a)anthracene, dimethyl nitrosoamine and busulfan-induced micronuclei.

**Keywords** □ *Panax ginseng* C.A. Meyer, micronucleus test, anticlastogenic effect.

최근 천연물로부터 얻어진 생리활성물질들에 대하여 돌연변이나 염색체손상의 억제효과에 관한 연구가 많이 진행되고 있다.<sup>1-5)</sup> 이는 흡연, 대기오염, 식품오염, 방사선 및 유해작업환경 등 각종 환경발암인자에 의한 연속적인 DNA 손상으로부터 정상세포들을 보호할 수 있는 암화학예방요법의 개발이 필요하기 때문이다.<sup>6)</sup>

이와 같은 목적으로 여러가지 식물성분에 대한 antimutagenesis 및 anticarcinogenesis 효과검색이 이루어지고 있으며, 이중 chlorophyll과 chlorophyllin, ellagic acid, geranin, flavonoids 및 sulfahydril compounds 등의 유전독성 억제효과가 알려지고 있다.<sup>7)</sup>

특히 녹차중의 (-)-epigallocatechin-3-gallate는 탁월한 tumor promotion 억제효과와 암예방작용 등이 보고되고 있는 물질이다.<sup>8)</sup>

한편, 동양의학에서 영약으로 알려져 널리 사용되어 오고있는 인삼은 오랜 과학적 연구를 통해서 adaptogen 활성, 항염증작용, 중추신경계에 대한 작용, stress에 대한 방어작용, 항빈혈효과 및 항암효과 등 많은 생리작용이 알려지고 있는 생약이다.<sup>9)</sup> 최근 인삼 단백질성분의 방사선 보호효과<sup>10,11)</sup>와 polyacetylene 화합물의 세포독성<sup>12)</sup> 등이 밝혀지면서 인삼성분의 유전독성억제활성 규명의 필요성이 대두되고 있다. 이에 인삼의 에탄올추출물, 석유에테르추출물 및 총사포닌 분획을 대상으로 *in vivo* 소핵시험을 이용하여 이들의 유전독성 억제효과를 연구하였기에 이에 보고하는 바이다.

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

## 실험방법

**실험재료**—본 실험에 사용한 재료는 금산산 인삼(4년근, 50 pcs/300g)을 분말로하여 사용하였으며, ethanol추출물은 인삼 분말을 70% ethanol로 80°C에서 15시간동안 추출하였으며, 1차 여과 후 잔사를 다시 70% ethanol로 80°C에서 15분간 추출하였다. 여과 후 1차 여액과 함께 감압농축하여 ethanol 추출물 시료로 하였다. 또 인삼분말 일정량을 취하여 Soxhlet 장치에 넣고 24시간 추출 후 감압농축하여 얻은 추출물을 석유에테르추출물 시료로 사용하였다. 또한 total saponin은 Namba<sup>13)</sup>의 방법을 이용하여 얻었다.

**시약**—fetal calf serum을 GIBCO사, colchicine은 Fluka, Giemsa staining solution(Gurr®66)은 BDH사에서 구입하였다. 또한 cyclophosphamide(CPA) benzo(a)pyrene[B(a)P], mitomycin C(MMC), 7, 12-dimethyl benzo(a)anthracene(DMBA), ethyl methane sulfonate(EMS), busulfan(BUS), 1-nitropyrene, dimethyl nitrosoamine(DMN), l-ascorbic acid (Vit. C), dl- $\alpha$ -tocopherol(Vit. E), glutathione(GSH) 등은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

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

**소핵시험**—생쥐를 금사시켜 도살한 후 Schmid의 방법<sup>14)</sup>에 따라 골수 도말 표본을 만들었다. 이 실험 방법의 개요는 ICR 생쥐의 대퇴골로부터 0.2 ml fetal calf serum을 이용하여 골수세포를 미세원심분리관에 채취하고, 1,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후 상등액을 버렸다. Pellet를 다시 소량의 fetal calf serum으로 현탁시킨 후, 세포 현탁액 소량을 슬라이드상에 도말하였고, 24시간 실온에서 풍건하였다. 그후 건조된 슬라이드는 메탄올로 고정하고, 5% Giemsa solution(pH 6.8, Sørensen buffer)로 30분간 염색하였다. 염색된 슬라이드는 종류수로 세척, 건조한 후 현미경으로 관찰(1000X)하여, 생쥐 한 마리당 1,000개의 다염성적혈구(polychromatic erythrocyte : PCE) 중

소핵을 가진 소핵 다염성 적혈구(micronucleated polychromatic erythrocyte : MNPCE)의 생성빈도(%)를 구하였다. 한편, 각 실험군당 생쥐 3마리를 사용하여 총 3,000개의 PCE를 관찰하였고, 유의성 검정은 Student's t-test로 실시하였다.

**검체투여방법**—인삼추출물들의 소핵생성 억제효과를 관찰하기 위한 인삼의 에탄올 추출물, 석유에테르 추출물 및 total saponin을 corn oil에 현탁하여 용량 1, 10, 100 mg/kg을 각각 경구투여하고, 동시에 cyclophosphamide 25 mg/kg을 복강주사한 다음 30시간 후 도살하여 소핵생성 빈도를 관찰하였다. 이때 인삼추출물 투여없이 cyclophosphamide 단독으로 투여하여 양성대조물질의 소핵생성빈도를 검정하였다.

한편, 인삼의 상기 3가지 추출물을 5일간 1일 1회 각각 용량 10 mg/kg씩 경구로 투여하고 최종투여 후 12시간 후에 benzo(a)pyrene을 150 mg/kg을 복강주사한 다음 36시간후에 도살하여 소핵생성빈도를 관찰하였다. 이때에도 인삼추출물 투여없이 benzo(a)pyrene 단독으로 투여하여 인삼추출물 투여에 따른 억제효과를 관찰하였다. 또한, 인삼의 상기 3가지 추출물들만 10 mg/kg씩 5일간 1일 1회 투여하여 추출물 자체의 소핵생성효과도 관찰하였다.

한편, 비타민 C, 비타민 E 및 glutathione의 소핵생성억제효과를 관찰하기 위하여 이들을 인삼 석유에테르 추출물과 같은 용량인 10 mg/kg씩 1일 1회 5일간 경구투여하고 최종투여 12시간후에 benzo(a)pyrene 150 mg/kg 투여한 다음, 36시간 후 도살하여 소핵생성억제 효과를 관찰하였다.

또한, 각종 변이원성물질들에 대한 인삼 석유에테르 추출물의 소핵생성억제효과를 검정하기 위해서 인삼 석유에테르 추출물을 5일간 1일 1회 10 mg/kg씩 경구 투여하고 최종투여 12시간 후에 mitomycin C 3 mg/kg, cyclophosphamide 25 mg/kg, 7, 12-dimethylbenzo(a)anthracene 100 mg/kg, dimethyl nitrosoamine 25 mg/kg, ethyl methane sulfonate 400 mg/kg, busulfan 30 mg/kg, 1-nitropyrene 50 mg/kg을 각각 복강주사하였으며 36시간 후 도살하여 여러가지 발암성 물질에 대한 인삼석유에테르 추출물의 소핵생성억제효과를 관찰하였다. 한편, 상기 발암성 물질만 투여하여 각각 양성대조물질들의 소핵생성 빈도를 검정하였다.

**Table I**—Suppression of cyclophosphamide(CPA)-induced MNPCEs by ginseng extracts<sup>a</sup>

Treatment	Dose (mg/kg)	MNPCE % <sup>c</sup>			Mean ± S.D	Suppression <sup>d</sup> (%)
		Individual Value				
Positive control (CPA) <sup>b</sup>	25	1.2	1.1	1.2	1.17 ± 0.05	
Ginseng Saponin + CPA <sup>c</sup>	1 + 25	1.5	1.2		1.35 ± 0.15	- 15.7
	10 + 25	1.3	1.0	1.1	1.13 ± 0.12	2.9
	100 + 25	0.5	0.8	0.9	0.73 ± 0.17**	37.1
Ginseng EtOH Ext. + CPA	1 + 25	1.1	1.2	1.0	1.10 ± 0.08	5.7
	10 + 25	1.4	1.2	0.8	1.13 ± 0.25	2.9
	100 + 25	0.8	0.8	0.4	0.67 ± 0.19*	42.9
Ginseng Pet. Ether Ext. + CPA	1 + 25	0.8	0.6		0.70 ± 0.10*	40.0
	10 + 25	0.6	0.7	0.6	0.63 ± 0.05**	45.7
	100 + 25	0.7	0.8	0.5	0.67 ± 0.12**	42.9

a) MNPCE value of the negative control mice treated with corn oil only was 0.17 ± 0.05 per 100PCE. b) Positive control was administered intraperitoneally once. c) 1,000 polychromatic erythrocytes were scored per each animal. d) Suppression % = 100 - (MNPCE% of treated group / MNPCE% of positive control × 100). e) Each ginseng extracts were administered orally once, and immediately cyclophosphamide was administered after the single dose of ginseng extracts.

\*Significant at  $p < 0.05$ , compared to controls. \*\*Significant at  $p < 0.01$ , compared to controls.

**Table II**—Suppression of benzo(a)pyrene[B(a)p]-induced MNPCEs by ginseng extracts<sup>a</sup>

Treatment	Dose (mg/kg)	MNPCE % <sup>c</sup>			Mean ± S.D	Suppression <sup>d</sup> (%)
		Individual Value				
Positive control [B(a)P] <sup>b</sup>	150	1.3	1.3	1.6	1.40 ± 0.14	
EtOH Ext. 5days p.o.	10	0.2	0.1	0.2	0.17 ± 0.05	
Saponin 5days p.o.	10	0.3	0.2	0.3	0.27 ± 0.05	
Pet. ether Ext. 5days p.o.	10	0.3	0.2	0.0	0.17 ± 0.12	
EtOH Ext. 5days p.o. + B(a)P i.p. <sup>c</sup>	10 + 150	1.6	1.9	1.8	1.77 ± 0.12	- 26.2
Saponin 5days p.o. + B(a)P i.p.	10 + 150	1.9	1.8	1.8	1.83 ± 0.05*	- 31.0
Pet. Ether Ext. 5days p.o. + B(a)P i.p.	10 + 150	0.6	0.9	0.6	0.70 ± 0.14**	50.0

a) Same as Table 1. b) B(a)p was administered intraperitoneally once. c) and d) Same as Table 1. e) Each ginseng extract was administered orally 5 days, and immediately B(a)p was administered after the last dose of ginseng extracts.

\*Significant at  $p < 0.05$ , compared to controls. \*\* significant at  $p < 0.01$ , compared to controls.

### 실험결과

**인삼 추출물들의 소핵생성억제효과**—인삼의 에탄올, 석유에텔 추출물 및 total saponin 각각 1, 10, 100 mg/kg 투여군에서 cyclophosphamide 25 mg/kg에 의해 유도된 소핵생성을 억제하는 효과가 나타났다 (Table I). 양성대조물질 cyclophosphamide 25 mg/kg 단독투여군에서 1.17 ± 0.05%의 소핵생성을 나타내었으나, 인삼 추출물 병용 투여군에서 대부분 용량의 존적인 억제효과를 나타내었다. 에탄올 추출물의 경우에는 100 mg/kg 투여군( $p < 0.05$ )에서, total saponin

투여군에서도 100 mg/kg 투여군( $p < 0.05$ )에서 유의성 있는 억제효과가 나타났으나, 석유에텔 추출물 병용 투여군에서는 모든 투여용량에서(0.1 mg/kg :  $p < 0.05$ , 1 mg/kg :  $p < 0.01$ , 10 mg/kg :  $p < 0.01$ ) 유의성있는 억제효과를 나타내었다.

또한, 인삼의 에탄올, 석유에텔 추출물 및 total saponin 각 10 mg/kg씩 5일간 투여한 후 양성대조물질로서 benzo(a)pyrene을 투여하였을 때는 benzo(a)pyrene 단독투여군에 비해서 에탄올엑기스와 total saponin 병용투여군이 오히려 약간의 소핵생성 상승효과를 나타내었다(Table II). 그러나 석유에텔 추출물

**Table III**—Suppression of benzo(a)pyrene[B(a)P]-induced MNPCEs by vit-C, E, GSH and ginseng petroleum ether extract(GPEE)<sup>a</sup>

Treatment	Dose (mg/kg)	MNPCE % <sup>c</sup>			Mean± S.D	Suppression <sup>d</sup> (%)
		individual	Value			
Positive control [B(a)p] <sup>b</sup>	150	1.3	1.3	1.6	1.40± 0.14	
Vit-C 5days p.o.+B(a)P i.p. <sup>e)</sup>	10+150	1.3	1.3	1.5	1.37± 0.09	2.4
Vit-E 5days p.o.+B(a)P i.p.	10+150	1.3	1.5	1.4	1.40± 0.08	0.0
GSH 5days p.o.+B(a)P i.p.	10+150	1.4	1.6	1.8	1.60± 0.16	-14.3
GPEE 5days p.o.+B(a)P i.p.	10+150	0.6	0.9	0.6	0.70± 0.14**	50.0

a), b), c) and d) Same as Table II. e) Vit-C, Vit-E, GSH and GPEE administered orally for 5days, and immediately B(a)p was administered after the last dose of test compounds.

\*\*Significant at  $p < 0.01$ , compared to controls.

**Table IV**—Suppression of various carcinogens-induced MNPCEs by ginseng petroleum ether extract (GPEE)<sup>a</sup>

Treatment <sup>b,e</sup>	Dose (mg/kg)	MNPCE % <sup>c</sup>			Mean± S.D	Suppression <sup>d</sup> (%)
		individual	Value			
MMC, i.p.	3	2.7	2.8	2.8	2.77± 0.05	
GPEE 5days p.o.+MMC i.p.	10+3	1.9	2.2	2.1	2.07± 0.12**	25.3
CPA i.p.	25	1.3	1.3	1.3	1.30± 0.00	
GPEE 5days p.o.+CPA i.p.	10+25	0.5	0.8	0.8	0.70± 0.14**	46.2
DMBA i.p.	100	2.2	2.7	2.3	2.40± 0.22	
GPEE 5days p.o.+DMBA i.p.	10+100	2.2	2.1	1.9	2.07± 0.12	13.9
EMS i.p.	400	1.1	1.1	1.4	1.20± 0.14	
GPEE 5days p.o.+EMS i.p.	10+400	0.9	0.5	0.6	0.67± 0.17*	44.4
DMN i.p.	25	0.7	0.8	0.8	0.77± 0.05	
GPEE 5days p.o.+DMN i.p.	10+25	0.7	0.7	0.6	0.67± 0.05	13.0
BUS i.p.	30	1.3	1.6	1.6	1.50± 0.14	
GPEE 5days p.o.+BUS i.p.	10+30	1.9	1.6	1.6	1.70± 0.14	-13.3
1-Nitropyrene i.p.	50	0.7	0.7	0.5	0.63± 0.09	
GPEE 5days p.o.+1-Nitropyrene i.p.	10+50	0.3	0.3	0.4	0.33± 0.05**	47.4
B(a)P i.p.	150	1.3	1.3	1.6	1.40± 0.14	
GPEE 5days p.o.+B(a)P i.p.	10+150	0.6	0.9	0.6	0.70± 0.14**	50.0

a), c) and d) Same as Table I. b) Carcinogen was administered intraperitoneally once e) GPEE was administered daily for 5 days, and immediately carcinogen was administered after the last dose of ginseng extracts.

\*Significant at  $p < 0.05$ , compared to controls. \*\* Significant at  $p < 0.01$ , compared to controls.

병용투여군에서는 약 50%의 억제효과( $p < 0.01$ )가 나타났다. 한편 인삼의 각 추출물을 10 mg/kg씩 5일간 1일 1회 투여하여 살펴본 추출물 자체의 소핵생성 빈도는 에탄올 추출물에서  $0.17 \pm 0.05$ , 석유에테르 추출물  $0.17 \pm 0.12$ , total saponin은  $0.27 \pm 0.05$ 로서 total saponin 투여군에서 다소 높게 나타났으나 대체로 negative control( $0.17 \pm 0.05$ )에 비하여 유의성있는 차이를 나타내지 않았다(Table II).

**항산화 비타민과 glutathion의 소핵생성 억제효과**  
—비타민 C와 비타민 E를 석유에테르 추출물과 같은 용량인 10 mg/kg씩 5일간 1일 1회 투여후 benzo(a)pyrene 150 mg/kg을 투여하여 소핵생성 억제효과를 관찰 하였을 때 양성 대조물질인 benzo(a)pyrene의 소핵생성 빈도를 항산화성 비타민 및 glutathione은 전혀 억제시키지 못했으나 인삼 석유에테르 추출물은 유의성 있는 억제효과( $p < 0.01$ )를 나타내었다(Table

## III).

각종 발암성물질들에 대한 인삼 petroleum ether 추출물의 소핵 생성억제 효과—Mitomycin C 3 mg/kg, cyclophosphamide 25 mg/kg, dimethyl benzo(a)anthracene 100 mg/kg, ethyl methane sulfonate 400 mg/kg, dimethyl nitrosoamine 25 mg/kg, busulfan 30 mg/kg, 1-nitropyrene 50 mg/kg, benzo(a)pyrene 150 mg/kg의 소핵 생성빈도와 상기 발암성물질들과 인삼 petroleum ether 추출물을 병용 투여시 소핵 생성빈도는 Table IV에 나타내었다. 변이원성물질들의 소핵 생성 빈도는 각각  $2.77 \pm 0.05$ ,  $1.30 \pm 0.00$ ,  $2.40 \pm 0.22$ ,  $1.20 \pm 0.14$ ,  $0.77 \pm 0.05$ ,  $1.50 \pm 0.14$ ,  $0.63 \pm 0.09$ ,  $1.40 \pm 0.14\%$ 이었다. 상기 발암성 물질에 인삼 petroleum ether 추출물 10 mg/kg을 5일간 1일 1회 경구 투여시 소핵 생성 빈도는  $2.07 \pm 0.12$ ,  $0.70 \pm 0.14$ ,  $2.07 \pm 0.12$ ,  $0.67 \pm 0.05$ ,  $1.70 \pm 0.14$ ,  $0.33 \pm 0.05$ ,  $0.70 \pm 0.14\%$ 였다. 이중 유의성있게 억제된 변이원성물질은 mitomycin C(25.3%,  $p < 0.01$ ), cyclophosphamide(46.2%,  $p < 0.01$ ), ethyl methane sulfonate(44.4%,  $p < 0.05$ ), 1-nitropyrene(47.4%,  $p < 0.01$ ), benzo(a)pyrene(50.0%,  $p < 0.01$ )이었다.

## 고 찰

인삼의 에탄올, 석유에텔 추출물 및 사포닌 분획이 cyclophosphamide에 의해 유도된 소핵 생성을 용량 의존적으로 억제 시켰다. 이중 석유에텔 추출물은 0.1 mg/kg의 낮은 용량에서도 강한 억제효과를 나타내었다. 임상에서 암 화학요법제로 널리 쓰이고, 그 자체로도 변이원성 및 발암성물질인 cyclophosphamide는 체내 흡수되어 4-hydroxy체로 된후 다시 산화효소의 작용에 의해 개환된 다음 비효소적으로 phosphoramidate mustard가 되어 bifunctional alkylating agent로 작용하는 물질이다.<sup>15)</sup> Cyclophosphamide 유도 유전독성을 억제하는 물질로 보고된 것은 골수세포에서 항산화제인 ethoxyquin<sup>16)</sup> 및 dietary vegetable인 당근과 시금치의 추출물 등이며,<sup>17)</sup> ascorbic acid도 사람 임파구 배양세포에서 억제효과를 나타내었음이 보고된 바 있으며, 작용기전에 대해서는 항산화 효과에 의한 free radical scavenger 작용으로 추정하고 있으나 정확하지는 않다.<sup>18)</sup>

또한 benzo(a)pyrene 유도 소핵 생성에 대해서는

석유에텔 추출물만이 억제효과를 나타내었다. benzo(a)pyrene은 *in vivo*에서 cytochrome p-450 dependent MFO에 의해 대사되어 benzo(a)pyrene-7, 8-diol-9, 10-epoxide와 같은 ultimate form의 활성대사 물질이 되어 유전독성을 나타내는 물질로 알려져있다.<sup>19)</sup> Lee 등<sup>20)</sup>은 인삼의 ethanol 추출물이 aryl hydrocarbon hydroxylase 활성의 증가에 비해 epoxide hydratase와 cytosolic glutathione transferase 활성을 크게 증가시키므로서 benzo(a)pyrene의 해독대사에 관여하고 있다고 보고한 바 있으나, 본 연구에서는 에탄올 추출물(10 mg/kg, 5 days, p.o.)가 benzo(a)pyrene 유전독성을 억제시키지 못하였다. 또한 사포닌은  $\gamma$ 선에 대한 방사선 보호효과가 없다고 보고된 것처럼<sup>21)</sup> 본 실험에서도 억제효과가 나타나지 않았으며 오히려 상승효과를 나타내었다. 그러나 석유에텔 분획은 유의성있는 억제효과를 나타내었다. 이같은 효과는 Park 등<sup>22)</sup>이 보고한 것과 같이 인삼 석유에텔 분획중에 들어있는 polyacetylene 화합물이 benzo(a)pyrene의 해독대사를 증가시키며 DNA binding을 감소시키는 효과와 상관이 있을 것으로 판단된다.

한편, 일부 연구자들에 의하여 인삼석유 에텔분획이 leukemia L5178Y와 sarcoma 180세포에 대한 세포 독성 작용과 sarcoma 180세포에서의 DNA, RNA 및 단백질 합성 저해작용이 있다고 보고된 바 있다.<sup>23)</sup> 이러한 인삼의 석유에텔 분획중에는 stearic acid와 palmitic acid등의 지방산, sesquiterpene류의 정유성 분 및  $\beta$ -sisterol 등의 스테로이드와 polyacetylene compound가 들어있다고 알려졌다.<sup>24)</sup> 이중 polyacetylene 화합물의 경우 세포독성을 일으키고 있음이 보고되고 있는데<sup>25,26)</sup> 이같은 세포독성 유발물질들은 변이원성을 나타낼 가능성이 많다. 따라서 석유에텔 추출물의 염색체 손상 억제효과와는 무관할 것으로 판단된다.

한편, 항산화성 비타민인 ascorbic acid와  $\alpha$ -tocopherol 및 생체내에서 endogenous nucleophile인 glutathione은 benzo(a)pyrene 유도 소핵생성을 전혀 억제시키지 못했다. 살모넬라 균을 이용한 antimutagenicity test에서도 ascorbic acid는 benzo(a)pyrene에 대해서 전혀 억제효과를 나타내지 못했다고 보고된 바 있는데,<sup>27)</sup> 일부연구자는 억제효과가 나타났다고 보고되는 등<sup>28)</sup> 현재까지 assay system의 차이에 따라 배치되는 결과가 나오고 있다.  $\alpha$ -tocopherol의 경우는

benzo(a)pyrene에 대해서 전혀 억제효과를 나타내지 않았으며 오히려 변이원성을 증가시켰다고 알려지고 있다.<sup>29)</sup> Glutathione은 CHO cell을 이용한 benzo(a)pyrene유도 gene mutation test에서 억제효과가 있음이 밝혀졌다.<sup>30)</sup> 그러나 *in vivo* test인 소핵시험을 이용한 본 실험에서는 억제효과를 나타내지 않았다.

현재 antimutagenesis 및 anticarcinogenesis의 작용기전으로서 독성물질 및 그 대사산물들의 1) 표적기관으로의 도달 및 반응차단, 2) 라다칼 등의 포착제거, 3) 전암세포의 promotion 억제, 4) DNA repair 기능항진 등이 제시되고 있는데<sup>6)</sup> 인삼 석유 에텔 분획은 위에서 열거한 여러가지 기전이 복합적으로 관련되어 염색체 손상억제효과를 나타내는 것 같으며 보다 깊은 연구가 필요하다고 본다.

또한 인삼 석유에텔 추출물의 여러가지 발암물질 유도 소핵 생성억제효과를 검정한 결과 인삼 석유에텔 추출물에 의해 유의성있게 억제된 발암물질은 mitomycin C, ethyl methane sulfonate, 1-nitropyrene 등이었으며, 7, 12-dimethyl benzo(a)anthracene과 dimethyl nitrosamine에서도 억제효과가 다소 나타났으나 유의성은 없었다. 따라서 인삼 석유 에텔 추출물은 특정 발암 물질에 대하여 선택적인 억제효과를 나타내며, 순수 물질이 아닌 조추출물임에도 불구하고 강한 억제효과를 나타내는 것으로 보아서, 세부 분획을 통한 활성 순수물질을 분리하여 유전독성억제 활성을 검정하고 그 작용기전을 연구할 필요가 있다고 보여진다.<sup>31)</sup>

## 결 론

생쥐 소핵시험을 이용하여 인삼의 ethanol, total saponin 및 석유에텔 추출물을 대상으로 cyclophosphamide와 benzo(a)pyrene에 대한 염색체 손상억제 작용을 연구한 결과 석유에텔 추출물이 가장 높은 억제활성을 나타내었다. 그러나 total saponin은 benzo(a)pyrene에 대해서 오히려 염색체 손상작용을 상승시켰으며, ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol 및 glutathione은 전혀 억제효과를 나타내지 못하였다.

한편, 인삼석유에텔추출물의 억제효과를 비교하기 위하여 여러 발암물질을 양성 대조물질로 실험한 결과, mitomycin C, ethyl methane sulfonate에 대하여 유의성있는 억제효과가 나타났으나 7, 12-dimethyl

benzo(a)anthracene, dimethyl nitrosoamine 및 busulfan에 대해서는 유의성이 없었다.

이러한 결과를 종합해 볼 때 인삼석유에텔추출물은 실험대상이된 모든 발암물질에 대한 유의성있는 억제작용을 나타내지는 않았지만, 대부분의 발암물질에 대한 강력한 염색체 손상억제 물질로 판단되었으며, 추후 분획의 세분화를 통하여 순수물질을 정제 단리하여 연구할 필요가 있는 인삼성분으로 판단된다.

## 문 헌

- 1) Hocman, G.: Prevention of Cancer: Vegetables and Plants. *Comp. Biochem. Physiol.*, **93B**, 201 (1989).
- 2) Lee, H. and Lin, J.: Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine. *Mutation Res.*, **204**, 229 (1988).
- 3) Monteith, D.K.: Catechin inhibition of mutagenesis and alteration of DNA binding of 2-acetyl-aminofluorene in rat hepatocytes. *Mutation Res.*, **204**, 151 (1990).
- 4) Sasaki, Yu F., Imanishi H., Ohta T. Watanabe M., Matsumoto K. and Shirasu Y.: Suppressing effect of tannic acid on the frequencies of mutagen-induced sister-chromatid exchange in mammalian cells. *Mutation Res.*, **213**, 195 (1989).
- 5) Jansson, T. and Zexh, L.: Effect of vanillin on sister-chromatid exchanges and chromosome aberrations in human lymphocytes. *Mutation Res.*, **190**, 221 (1987).
- 6) Flora, S.D. and Ramel, C.: Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and Overview. *Mutation Res.*, **202**, 285 (1988).
- 7) Hayatsu, H., Arimoto, S. and Negishi, T.: Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Res.*, **202**, 429 (1988).
- 8) Kada, T., Kaneko, K., Matsuzaki, S., Matsuzaki, T. and Hara Y.: Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens. A case of the green tea factor. *Mutation Res.*, **150**, 127 (1985).
- 9) Hahn, D.R.: Physiological actions of ginseng. *Proc. Korean Ginseng Science Symp.*, p. 81 (1974).
- 10) Takeda, A., Katoh, N. and Yonezawa, M.: Restoration of radiation injury by ginseng. III Radioprotective effect of thermostable fraction of ginseng

- extract of mice, rats and guinea pigs. *J. Radiat. Res.*, **23**, 150 (1982).
- 11) Kim, C.M.: Effect of radioprotection ginseng protein fraction on sister-chromatid exchange, *Proc. 2nd Int. Symp. on Recent Advances in Natural Products Research*. p. 251 (1989).
  - 12) 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 (1978).
  - 13) Namba, T., Yoshizuki, M., Tomimori, T., Kobach, k., Mitsui, K. and Hase, J.: Chemical and biochemical evaluation of ginseng and related crude drugs. *Yakukaku Zasshi*, **94**, 252 (1974).
  - 14) Schmid, W.: The micronucleus test. *Mutation Res.*, **31**, 9 (1975).
  - 15) Colvin, M., Padgett, C.A. and Fenselau, C.: A biologically active metabolite of cyclophosphamide. *Cancer Res.*, **36**, 1121 (1976).
  - 16) Renner, H.W.: Antimutagenic effect of an antioxidant in mammals, *Mutation Res.*, **135**, 125 (1984).
  - 17) Abraham, S.K., Mahjan, S. and Kesavan, P.C.: Inhibitory effects of dietary vegetables on the *in vivo* clastogenicity of cyclophosphamide. *Mutation Res.*, **172**, 51 (1986).
  - 18) Gebhart, E., Wagner, H. and Behnsen, H.: The action of anticlastogens in human lymphocyte cultures and their modification by rat-liver S9 mix. II. Studies for vitamin C and E. *Mutation Res.*, **149**, 84 (1985).
  - 19) Wood, A.W., Chang, R.L., Levin, W., Yagi, H., Thakker, D.R., Jerina, 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).
  - 20) Lee, F.C., Park, J.K., Ko, J.H., Lee, J.S., Kim, K.Y. and Kim, C.K.: Effects of panax ginseng extract on the benzo(a)pyrene metabolizing enzyme system. *Drug and Chemical Toxicology*, **10**, 227 (1987).
  - 21) Zhang, J., Sigdestad, C.P., Gemmell, M.A. and Grdina, D.J.: Modification of radiation response in mice by fractionated extracts of *Panax ginseng*. *Radiation Res.*, **112**, 156 (1987).
  - 22) Park, J.K., Kim, S.I. and Lee, C.B.: Polyacetylene-induced alterations in benzo(a)pyrene metabolism and reduction of total DNA-BP metabolites binding. *Korean Biochem. J.*, **22**, 133 (1989).
  - 23) 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).
  - 24) Han, B.H.: Chemical components of Korean ginseng, *Proc. Korean Ginseng Science Symp.*, p. 81 (1974).
  - 25) Kim, S.I., Lee, Y.H. and kang, K.S.: 10-Acetyl panaxtriol, a new cytotoxicity polyacetylene from *Panax Ginseng*. *Yakhak Hoeji*, **33**, 118 (1989).
  - 26) Shim, S.C.: Polyacetylene compounds from Korean ginseng: isolation, characterization, synthesis and cytotoxicity. *Proc. 2nd Int. Symp. on Recent Advances in Natural products Research. Seoul, Korea* p. 70 (1989).
  - 27) 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).
  - 28) Torigoe, T, Arisawa, M., Itoh, S., Fujiu, M. and Maruyama, H.B.: Antimutagenic chalcones: Antagonizing the mutagenicity of benzo(a)pyrene on *Salmoella typhimurium*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **112**, 833 (1983).
  - 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-transferases in mammalian cells (CHO/HGPRT assay). *Mutation Res.*, **178**, 257 (1987).
  - 31) Choi, S.G., Kim, C.H. and Heo, M.Y.: Suppressive effect of petroleum ether of panax ginseng against benzo(a)pyrene-induced micronuclei in mice. *Yakhak Hoeji*, **35**, 466 (1991).