

(±)-Camphor가 ICR 마우스 수컷의 간 cytochrome P450 효소 활성화에 미치는 영향

오은경, 박형건, 배기현, 최옥진, 최은경
최창근, 한진희, 정태천*

영남대학교 약학대학

Effects of (±)-camphor on Hepatic Cytochrome P450 Enzymes in Male ICR Mice

Eun-Kyung Oh, Hyung-Gun Park, Gi-Heon Bae, Ok-Jin Choi, Eun-Kyung Choi,
Chang-Kun Choi, Jin-Hee Han and Tae Cheon Jeong*

College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan, 712-749, Korea

ABSTRACT

Effects of (±)-camphor on liver cytochrome P450 enzymes were investigated in male ICR mice. Mice were treated intraperitoneally with 0, 200, 400 and 800 mg/kg of (±)-camphor in corn oil for 3 consecutive days. Twenty four hr after the final treatment, the animals were subjected to necropsy. The activities of serum aspartate aminotransferase and serum alanine aminotransferase were slightly changed by the treatment with (±)-camphor at the doses used. Administration of (±)-camphor to mice significantly induced the hepatic activities of pentoxoresorufin O-depentylase and benzyloxyresorufin O-debenzylase and weakly induced ethoxyresorufin O-deethylase in dose-dependent manners. The present results suggested that (±)-camphor might act as a relatively specific inducer of hepatic cytochrome P450 2B in male ICR mice.

Key words : (±)-Camphor, Cytochrome P450s, Induction, Male ICR mice

서 론

Cytochrome P450(P450)은 간의 microsome에 존재하는 일산화 첨가효소로서 스테로이드 호르몬, 지방산 및 prostaglandin 등과 같은 내인성 물질들과 약물, 발암물질 및 환경오염물질들과 같은 다양한 이물질들(xenobiotics)의 산화에 관여한다(Gue-

ngerich and Shimada, 1991; Jeong, 2001). P450은 생체 내에서 일정하게 발현되는 것이 아니라, 화학 물질이나 생리적 조건 등에 의해 유도 또는 억제 가 되는 특성을 갖고 있어 자연계에 존재하는 수많은 물질들은 약물 또는 독성물질의 체내 대사 과정에 영향을 줄 수 있다. 즉, P450은 단일 종의 단백질이 아니고 여러 동종효소들로 구성되어 있으며, 각 동종효소들마다 선택적인 기질 특이성을 보이는데, 약물 또는 독성물질이 체내에서 대사과정을 거치면서 독화 또는 무독화 과정을 거칠 때

* To whom correspondence should be addressed.

Tel: 82-53-810-2819, E-mail: taecheon@yu.ac.kr

각 동종효소의 발현 정도에 따라 체내 작용이 영향을 받을 수 있는 것이다. 따라서 자연계에 존재하는 수많은 물질들은 약물의 체내 작용 및 이물질의 대사과정에 영향을 줄 수 있으므로(Guengerich and Shimada, 1991), 이들이 P450 발현에 미치는 영향을 평가할 필요성이 있다. 특히 식품을 통하여 많은 양이 섭취될 수 있는 천연물들의 경우에는 P450 발현에 미치는 영향을 평가하므로써, 식품-이물질 간의 체내 상호작용을 예측할 수 있는 정보를 제공할 수 있어 더욱 중요하다.

(±)-Camphor는 *Cinnamomum camphor* 및 *Dryobalanops aromatica* 등의 식물에 존재하는 monoterpene으로, 정유로부터 원심분리법과 승화법에 의해 분리될 수 있다. (±)-Camphor는 자극적인 냄새와 맛이 있는 작은 무색 결정으로, 심장과 호흡기관의 자극제로서 뿐만 아니라 구풍제로서 작용하며, 국소 자극작용, 방부작용 및 중추신경계 흥분작용을 나타내는 것으로 보고되어 있는 물질이다(Banerjee *et al.*, 1995). 기존의 연구결과에 의하면, *in vitro* 실험에서 (±)-camphor를 비롯한 몇가지 monoterpene 류들이 P450 2B1 활성인 pentoxyresorufin O-depentylyase를 가역적으로 억제한다고 밝혀진 바가 있다(De-Oliveira *et al.*, 1997). 한편, 랫드를 이용한 *in vivo* 실험에서는 (±)-camphor가 P450 2B1 mRNA의 발현을 증가시키는 것으로 보고되어 있으며(Austin *et al.*, 1988), 마우스에서는 20일간 투여시 aryl hydrocarbon hydroxylase 활성을 약하게 증가시키는 것으로 보고되어 있다(Banerjee *et al.*, 1995). 그러나 아직까지 다양한 P450 동종효소들에 대한 영향은 알려져 있지 않아, 이에 관한 연구가 필요하였다.

본 연구에서는 대사 활성화 과정이 요구되는 독성물질의 독성기작 연구에 있어서 (±)-camphor를 P450 발현에 대한 모델 조절제로 활용할 수 있는지를 살펴보기 위하여, ICR계 마우스 수컷에서의 영향을 실험하였다. (±)-Camphor를 P450 발현에 대한 조절제로 사용하기 위해서는 물질 자체의 독성이 없어야 하므로, 사용한 용량에서의 간독성 여부를 함께 실험하였다. (±)-Camphor에 의한 P450 조절능을 각종 주요 동종효소들에 대하여 알아보 고자 (±)-camphor를 투여한 마우스의 간 S-9 분획에서 ethoxyresorufin O-deethylase (EROD), methoxyresorufin O-demethylase (MROD), pentoxyre-

sorufin O-depentylyase (PROD), benzyloxyresorufin O-debenzylase (BROD), p-nitrophenol hydroxylase (PNPH) 및 erythromycin N-demethylase (ERDM)의 활성도에 대한 영향을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

대한실험동물센터(음성, 한국)에서 구입한 4주령의 특정 병원체 부재 ICR계 마우스 수컷을 2주간 순화하여 실험에 사용하였다. 사료는 제일사료주식회사(대전)의 설치류용 펠릿 사료를 이용하였고, 물은 상수도수를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 사육환경은 $23 \pm 3^\circ\text{C}$ 의 온도와 40~60%의 습도에서 12시간씩 명암주기를 조절하여 관리하였다.

2. 실험재료

(±)-Camphor, ethoxyresorufin, methoxyresorufin, pentoxyresorufin, benzyloxyresorufin, p-nitrophenol, erythromycin, glucose 6-phosphate, glucose 6-phosphate dehydrogenase, NADPH, bovine serum albumin 및 혈청의 alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase (AST) 활성도 측정용 kit는 Sigma 사(St. Louis, MO, 미국) 제품을 구입하여 사용하였다. 그 밖의 시약도 시판 특급시약을 실험에 사용하였다.

3. 동물의 투여

(±)-Camphor 200, 400 및 800 mg을 10 ml의 corn oil에 각각 녹여 3일간 10 ml/kg의 액량으로 복강투여 하였고, 마지막으로 투여한 다음날 부검을 실시하였다. 부검시에는 마우스를 ether로 마취시키고 개복하여 복대정맥으로부터 채혈한 뒤 간을 적출하여 중량을 측정하고, -80°C 에서 보관하였다. 실험동물은 한 군당 5마리씩 사용하였고, 매 체대조군에는 corn oil만을 10 ml/kg의 용량으로 복강투여하였다.

4. 간독성 지표

채혈한 후 30분간 상온에서 혈액을 방치하고, 4

°C에서 10분 동안 3,000×g로 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 효소 활성도 측정시까지 혈청을 -80°C에서 보관하였다. 효소 활성도의 측정은 제조사에서 공급한 시험법에 준하여 실시하였다.

5. 간 S-9분획의 분리

간을 동물로부터 적출하여 4배량의 냉 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4)로 간균질액을 제조하였다. 이것을 4°C에서 9,000×g로 20분간 원심분리한 후 상등액을 분리하여 1 ml씩 분주하였고, 효소 활성도 측정시까지 -80°C에 보관하였다. 단백질 정량은 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Lowry법으로 정량하였다(Lowry *et al.*, 1951).

6. P450 효소 활성도의 측정

EROD의 활성은 Blank 등(1987)의 방법을 약간 수정하여 측정하였다. 반응액의 조성은 2 mg/ml의 bovine serum albumin, 5 mM glucose 6-phosphate, 1 U의 glucose 6-phosphate dehydrogenase, 5 μM NADPH, 2.5 μM 7-ethoxyresorufin이 함유된 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4)로 구성하였으며, 37°C에서 반응시켰다. 반응 후 생성된 resorufin을 excitation maximum 550 nm와 emission maximum 585 nm에서 형광계로 측정하여 정량하였다. MROD, BROD 및 PROD의 활성은 Lubet 등(1986)의 방법을 약간 수정하여 측정하였다. 모든 반응물과 실험절차는 EROD와 동일하였고, 기질의 농도는 2.0 μM을 사용하였다. PNPH 활성은 Koop (1986)의 방법으로 측정하였다. 반응액은 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4), 100 μM p-nitrophenol, 1 mM NADPH 및 효소원으로 구성되었으며, 37°C에서 30분간 반응시켰다. 생성되는 4-nitrocatechol의 양을 512 nm에서 측정할 흡광도로부터 산출하였다. ERDM의 활성은 Nash (1953)와 Johnson 등(1987)의 방법으로 측정하였다. 반응액은 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4), 0.8 mM NADPH, 5.0 mM MgCl₂, 3.0 mM glucose 6-phosphate, 1 U의 glucose 6-phosphate dehydrogenase 및 7.5 mM semicarbazide로 구성되었으며, 400 μM의 erythromycin을 넣어, 37°C에서 30분간 반응시켰다. 생성되는 formaldehyde는 412 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

7. 통계처리

모든 실험결과는 평균±표준오차로 표시하였다. 대조군에 대한 유의성 여부를 Dunnett의 t-test를 이용하여 검정하였다. P<0.05 (*) 및 P<0.01 (**) 수준에서 유의성을 보이는 결과를 별표로 표시하였다.

결 과

본 연구는 (±)-camphor의 P450 조절제로서의 활용 가능성을 알아보기 위한 연구의 일환으로, ICR 마우스 수컷을 이용하여 P450의 발현에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보았다. 우선 (±)-camphor가 본 연구에 사용한 용량에서 일반독성이 있는지를 알아보기 위하여, 체중, 간중량 및 단백질량의 변화를 관찰하였고, 간독성 여부를 알아보기 위하여 혈청의 AST 및 ALT 효소 활성도를 측정하였다.

Table 1에서는 마우스에 (±)-camphor를 0, 200, 400 및 800 mg/kg을 복강투여한 후의 체중, 간중량 및 단백질량의 변화 여부를 살펴보았다. 체중, 간중량 및 단백질량의 변화가 관찰되지 않는 것으로 보아 실험에 사용한 용량에서 (±)-camphor에 의한 일반독성은 없는 것으로 판단되었다.

Fig. 1에서는 (±)-camphor 투여가 혈청 AST 및 ALT 활성에 미치는 영향을 시험한 결과를 나타내었다. 혈청 AST 활성의 경우 최고용량군에서 증가하여 통계적 유의성을 보이긴 하였으나, 간독성 지표로써 AST보다 민감한 지표로 알려진 ALT 활성

Table 1. Effects of (±)-camphor on body and liver weight and liver protein in male ICR mice

Camphor (mg/kg)	Body (g)	Liver (g)	Protein (mg/g liver)
Vehicle	31.9±1.0	2.138±0.125	9.1±0.4
200	32.0±0.4	2.140±0.045	10.4±0.5
400	32.3±0.5	2.140±0.085	10.1±0.1
800	33.0±1.2	2.087±0.073	10.2±0.2

Male ICR mice were treated intraperitoneally with (±)-camphor in corn oil at 0, 200, 400 and 800 mg/kg for 3 consecutive days. Twenty four hr after the last treatment, all animals were subjected to necropsy. Each value represents mean ± S.E. of four or five animals.

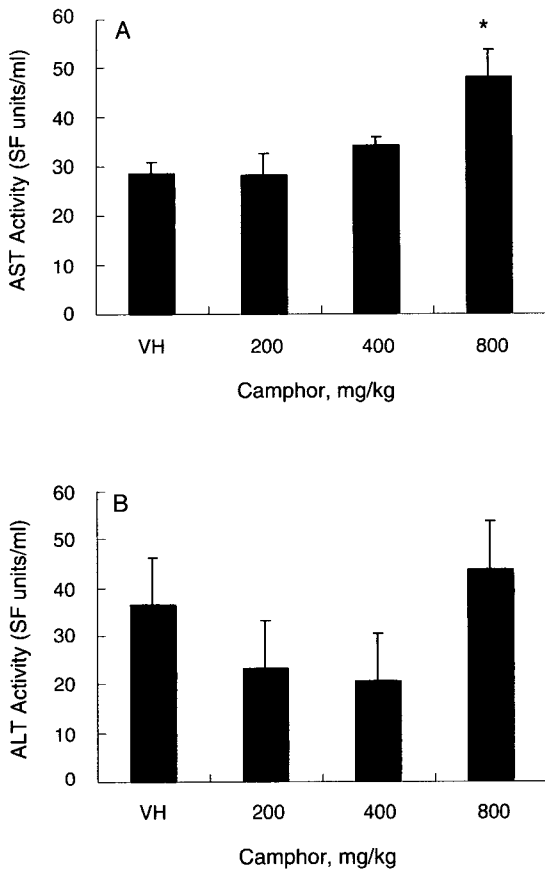


Fig. 1. Effects of (\pm)-camphor on serum AST (A) and ALT (B) activities in male ICR mice. Animals were treated intraperitoneally with 0, 200, 400 and 800 mg/kg of (\pm)-camphor for 3 days. The blood was collected 24 hr after the last treatment. Each bar represents the mean activity \pm S.E. of four or five animals. An asterisk indicates the value significantly different from the vehicle control at $P < 0.05$ (*).

도에는 변화가 없어, 본 연구에 사용한 (\pm)-camphor의 투여용량에서는 간독성이 경미한 것으로 판단되었다.

Fig. 2에서는 P450 1A 효소활성인 EROD에 대한 (\pm)-camphor의 영향을 알아보기 위하여, (\pm)-camphor를 0, 200, 400 및 800 mg/kg의 용량으로 3일간 복강투여한 후 간 S-9 분획의 EROD 활성을 측정된 결과를 도시하였다. EROD 활성은 (\pm)-camphor 투여에 의해 약한 정도이지만 용량에 비례해서 활성도가 증가했고, 통계적인 유의성도 나

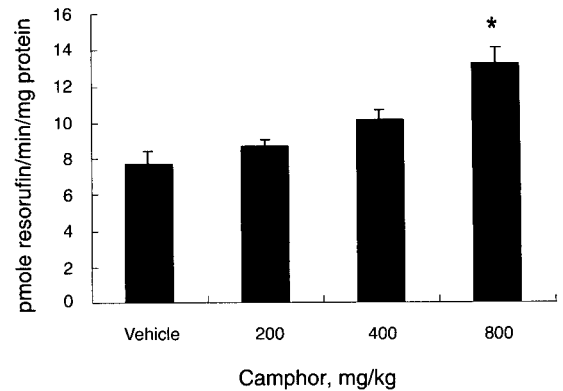


Fig. 2. Effects of (\pm)-camphor on EROD activity in liver S-9 fractions. Male ICR mice were treated intraperitoneally with 0, 200, 400 and 800 mg/kg of (\pm)-camphor for 3 consecutive days. Twenty four hr after the last treatment, all animals were subjected to necropsy. Each bar represents mean activity \pm S.E. of four or five animals. The asterisk indicates the value significantly different from the vehicle control at $P < 0.05$ (*).

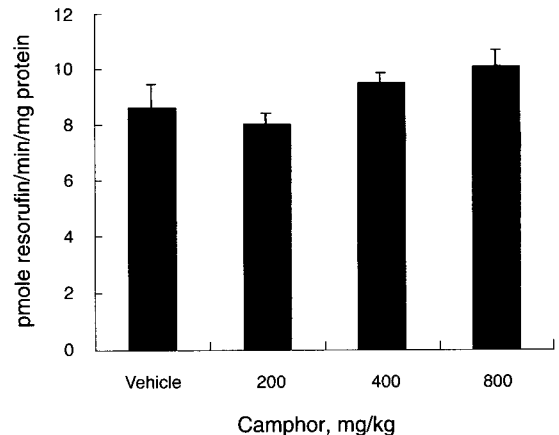


Fig. 3. Effects of (\pm)-camphor on MROD activity in liver S-9 fractions. Male ICR mice were treated intraperitoneally with 0, 200, 400 and 800 mg/kg of (\pm)-camphor for 3 consecutive days. Twenty four hr after the last treatment, all animals were subjected to necropsy. Each bar represents mean activity \pm S.E. of four or five animals.

타났다.

Fig. 3에서도 역시 P450 1A 효소활성 중 하나인

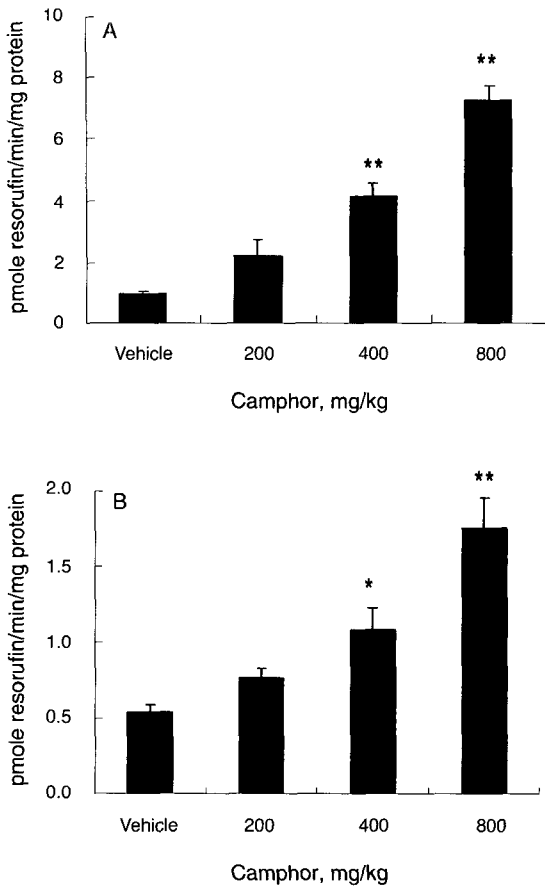


Fig. 4. Effects of (±)-camphor on BROD (A) and PROD (B) activities in liver S-9 fractions. Male ICR mice were treated intraperitoneally with 0, 200, 400 and 800 mg/kg of (±)-camphor for 3 consecutive days. Twenty four hr after the last treatment, all animals were subjected to necropsy. Each bar represents mean activity ± S.E. of four or five animals. The asterisk indicates the value significantly different from the vehicle control at $P < 0.05$ (*) or $P < 0.01$ (**).

MROD에 미치는 (±)-camphor의 영향을 실험한 결과를 도시하였다. 실험결과에 따르면 MROD 활성도는 용량에 따른 변화가 관찰되지 않았고, 통계적인 유의성도 나타나지 않았다.

Fig. 4에서는 P450 2B 효소활성인 BROD와 PROD에 대한 결과를 도시하였다. 두 효소 모두 (±)-camphor의 용량에 의존적으로 활성도의 증가가 관찰되었으며, 통계적인 유의성도 있었다. (±)-Camphor의 BROD 및 PROD 유도효과는 본 연구에서

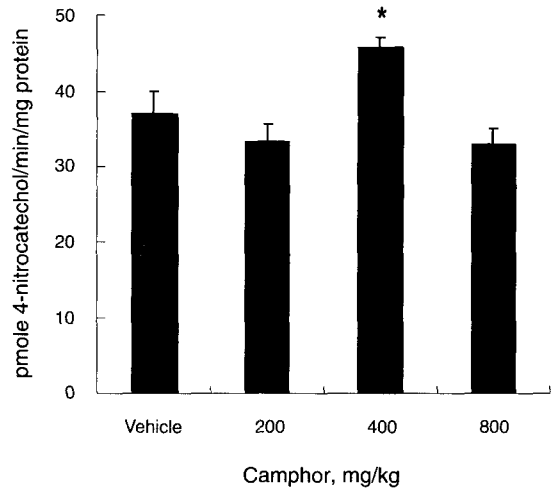


Fig. 5. Effects of (±)-camphor on PNPH activity in liver S-9 fractions. Male ICR mice were treated intraperitoneally with 0, 200, 400 and 800 mg/kg of (±)-camphor for 3 consecutive days. Twenty four hr after the last treatment, all animals were subjected to necropsy. Each bar represents mean activity ± S.E. of four or five animals. The asterisk indicates the value significantly different from the vehicle control at $P < 0.05$ (*).

수행한 여러 효소활성도의 변화 중 가장 뚜렷한 결과이었다. 따라서, (±)-camphor는 P450 2B 동종 효소들을 크게 유도시키는 것으로 판단되었다.

Fig. 5에서는 P450 2E1 효소활성인 PNPH에 대한 (±)-camphor의 영향을 도시하였다. PNPH 활성도는 (±)-camphor의 투여용량에 의존적이진 않았지만, 400 mg/kg의 (±)-camphor 투여군에서 통계적 유의성을 보여주었다. 그러나 용량의존성을 보이지 않아 시험물질에 의한 영향인지를 판단하기는 어려운 것으로 사료되었다.

Fig. 6에서는 (±)-camphor가 P450 3A 효소활성인 ERDM에 미치는 영향을 나타내었다. (±)-Camphor의 투여는 본 연구에서 사용한 용량에서 P450 3A 효소에 영향을 주지 않는 것으로 나타났 다.

따라서, BROD 및 PROD의 활성도가 가장 많이 유도가 된 것으로 보아 (±)-camphor는 P450 2B에 대하여 비교적 선택성을 보이는 유도제로 판단되었고, P450 효소활성도를 유도시키는 용량에서

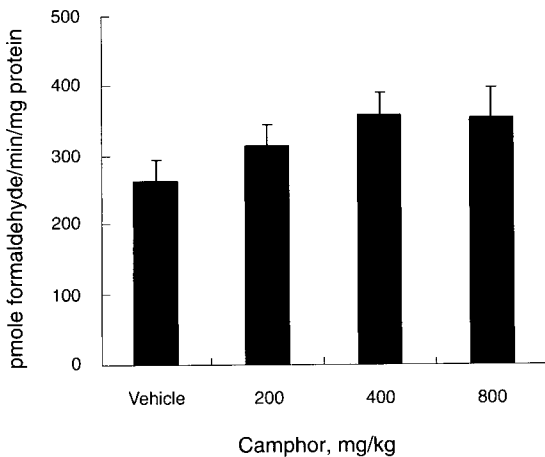


Fig. 6. Effects of (±)-camphor on ERDM activity in liver S-9 fractions. Male ICR mice were treated intraperitoneally with 0, 200, 400 and 800 mg/kg of (±)-camphor for 3 consecutive days. Twenty four hr after the last treatment, all animals were subjected to necropsy. Each bar represents mean activity \pm S.E. of four or five animals.

일반독성이나 간독성이 경미한 것으로 보아 대사 활성화가 요구되는 독성물질의 독성작용 기작을 연구할 때, 모델 조절제로 활용할 수 있을 것으로 판단되었다.

고 찰

암유발 인자로서 화학물질의 중요성은 이미 널리 알려져 있는 사실이며, 많은 발암물질들의 경우 체내에 흡수된 후 약물대사효소들에 의한 대사과정을 거치면서 생성되는 대사체들에 의해 발암성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Guengerich and Shimada, 1991). 한편, 발암물질의 대사활성화에 관련된 P450 효소군은 식품을 비롯한 천연물 기원의 성분들에 의해 발현이 조절되어, 체내에 흡수된 독성물질 또는 발암물질의 대사에 큰 영향을 줄 수 있다. 이러한 점에서 천연성분들에 대한 약물대사효소 조절능을 검색하는 것이 매우 중요하다. 뿐만 아니라 독성기작 연구 시에도 많은 경우에 있어서 자체의 독성보다 대사체의 독성이 더욱 강한 것이 많이 알려져 있어, 독성작용이 대사 후에 유발되는지

를 판단할 필요성이 있다(Guengerich and Shimada, 1991). 이때, P450 발현을 조절할 수 있는 물질을 모델 조절제로 활용하면 독성의 증감여부로 대사 활성화 과정이 독성발현에 필수적인지를 *in vivo* 실험을 통하여 판단할 수 있다(Jeong, 2001). 따라서 본 연구에서는 독성연구시 P450 모델 조절제로 활용할 수 있는 물질을 검색하기 위한 연구의 일환으로 (±)-camphor가 P450 발현에 미치는 영향을 마우스에서 실험하였다. 모델 조절제로써의 활용이 가능하기 위해서는 조절제 자체가 *in vivo*에서 독성을 유발하면 결과의 판단이 어렵기 때문에 P450 발현에 영향을 줄 수 있는 투여용량에서 시험물질의 일반독성 및 간독성 여부를 동시에 실험하였다.

(±)-Camphor에 대한 *in vitro* 실험결과를 살펴보면, phenobarbital을 전투여하여 P450 2B 효소활성을 인위적으로 유도시킨 간 microsome에서 P450 2B1의 특이적 marker인 PROD 활성을 유의성 있게 억제하였다(De-Oliveira, 1997). 따라서, (±)-camphor가 *in vitro*에서 P450과 상호작용을 할 수 있음을 알 수 있었다. 그러나 랫드를 이용한 *in vivo* 실험에서는 (±)-camphor를 비롯한 몇가지 terpene 류를 복합투여하였을 때, 간의 P450을 유도하였다(Austin, 1988). 특히 (±)-camphor에 의한 P450 2B1의 유도 기작을 Northern blot을 통해서 확인한 결과, P450 2B1 mRNA의 전사를 촉진하여 나타나는 것으로 밝혀졌다(Banerjee *et al.*, 1995). 그리고 (±)-camphor를 본 연구에서 사용한 투여용량과 유사한 300 mg/kg의 용량으로 20일 동안 경구투여한 경우에는 P450 1A 선택성을 보이는 aryl hydrocarbon hydroxylase 활성도를 약하게 유도시키는 것으로 나타났다(Banerjee *et al.*, 1995). 또한 같은 연구에서 항산화제로서 생체 내 방어 기작에 중요한 역할을 하는 환원형의 glutathione의 양이 간조직 내에서 증가된 것으로 보아 (±)-camphor가 항암제로서 개발될 수 있는 가능성도 제시해 주었다(Banerjee *et al.*, 1995). 이렇게 많은 경우에 있어서 *in vitro*에서 P450 활성을 억제하는 물질이 실제로 *in vivo*에서는 P450 유도제로 작용하는 경우가 있으므로, P450 모델 조절제의 탐색을 위해서는 *in vitro* 실험보다는 *in vivo* 실험이 필수적인 것으로 보이며, 본 연구에서도 이러한 이유 때문에 *in vivo* 실험을 수행하게 되었다. 또한, 지금까지 (±)-camphor에 대한 연구가 단편적인 *in vitro* 및 *in*

in vivo 실험만 수행되어 각종 P450 동종효소들에 대한 영향이 평가된 바가 없어 본 연구의 수행이 필요하였다.

본 연구에서는 (±)-camphor가 P450 효소의 발현에 영향을 줄 수 있을 것이라는 이전의 단편적인 보고들에 착안하여, 마우스에서 발현되는 P450 동종효소 중 발현양 및 독성물질 대사에 관여하는 중요 동종효소들에 대한 선택적인 기질들 6종류를 선발하여 효소활성도의 유도여부를 확인하고자 하였다. 본 연구 결과에 따르면 혈청의 ALT나 AST 활성도의 변화가 경미한 것으로 보아 실험에 사용한 용량에서 (±)-camphor는 간독성이 약한 것으로 판단하였다(Fig. 1). 그리고 (±)-camphor는 용량 의존적으로 P450 2B 활성인 BROD와 PROD를 크게 유도하고, P450 1A 활성인 EROD는 약하게 유도시키는 것으로 보아 비교적 P450 2B 동종효소에 선택적인 유도제라는 것을 확인할 수 있었다(Figs. 2, 4). 또한, (±)-camphor는 랫드에서 뿐만 아니라 마우스에서도 P450 2B 효소활성도를 유도하는 사실을 알 수 있었고, 마우스에서 실험하였던 20일 간의 연속투여를 통한 P450 유도는 모델 조절제로 (±)-camphor를 사용하기 위한 목적으로는 투여기간이 너무 장기간인 점을 감안할 때 본 연구에 사용한 3일 투여가 적절할 것으로 판단되었다(Banerjee *et al.*, 1995).

따라서 P450 유도에 대한 추가적인 연구를 통하여 유도기작과 독성유무를 밝히면, (±)-camphor를 P450 유도제로 독성시험에 사용할 수 있을 것으로 기대하여, 현재 (±)-camphor에 의한 P450 2B의 유도기작을 판단하기 위하여 mRNA 수준에서의 영향을 평가하고 있으며, (±)-camphor를 대사활성화 과정이 요구되는 독성물질의 독성기작 평가에 활용하고자 기지의 독성물질을 이용한 *in vivo* 연구를 수행하고 있다.

결 론

본 연구에서는 천연물인 (±)-camphor가 P450 효소에 미치는 영향을 ICR계 마우스 수컷에서 살펴보았다. (±)-Camphor를 3일간 0, 200, 400 및 800 mg/kg의 용량으로 복강투여하였을 때, P450 2B 효소활성인 BROD와 PROD를 용량 의존적으로

크게 유도시키며, P450 1A 활성인 EROD는 약하게 유도시키는 사실을 알 수 있었다. 한편 본 연구에 사용한 투여용량에서는 (±)-camphor 자체에 의한 간독성이 경미한 것으로 미루어 P450 2B에 의해 대사되는 독성물질의 독성기작 연구에 (±)-camphor를 모델 유도제로 활용할 수 있을 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 영남대학교 신임 교원 정착연구비의 지원에 의해 수행되었으므로, 이에 감사사를 드립니다.

참 고 문 헌

- Austin CA, Shephard EA, Pike SF, Rabin BR and Phillips IR. The effect of terpenoid compounds on cytochrome P-450 levels in rat liver, *Biochem. Pharmacol.* 1988; 37 (11): 2223-2229.
- Banerjee S, Welsch CW and Rao AR. Modulatory influence of camphor on the activities of hepatic carcinogen metabolizing enzymes and the levels of hepatic and extra-hepatic reduced glutathione in mice, *Cancer Lett.* 1995; 88: 163-169.
- Blank JA, Tucker AN, Sweatlock J, Gasiewicz TA and Luster MI. α -Naphthoflavone antagonism of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced murine ethoxyresorufin O-deethylase activity and immunosuppression, *Mol. Pharmacol.* 1987; 32: 168-172.
- De-Oliveira ACAX, Ribeiro-Pinto LF and Paumgarten FJR. *In vitro* inhibition of CYP2B1 monooxygenase by β -myrcene and other monoterpenoid compounds, *Toxicol. Lett.* 1997; 92(1): 39-46.
- Guengerich FP and Shimada T. Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P-450 enzymes, *Chem. Res. Toxicol.* 1991; 4(4): 391-407.
- Jeong TC. Metabolic activation of immunotoxic compounds by cytochrome P450s, *J. Resource Develop.* 2001; 20: 1-14.
- Johnson KW, Kim DH, Munson AE and Holsapple MP. Dependence on intact cells for the *in vitro* activation of dimethylnitrosamine to an immunosuppressive form, *Mutation Res.* 1987; 182: 211-221.
- Koop DR. Hydroxylation of p-nitrophenol by rabbit ethan-

- ol-inducible cytochrome P450 isozyme 3a, *Mol. Pharmacol.* 1986; 29: 399-404.
- Lowry OH, Resenbrough NJ, Farr AL and Randall RJ. *Protein measurement with the folin phenol reagent*, *J. Biol. Chem.* 1951; 193: 265-275.
- Lubet RA, Meyer RT, Cameron JW, Nims RW, Burke MD, Wolff J and Guengerich FP. Dealkylation of pentoxyresorufin; a rapid and sensitive assay for measuring induction of cytochrome (s) P-450 by phenobarbital and other xenobiotics in the rat, *Arch. Biochem. Biophys.* 1985; 238: 43-48.
- Nash T. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction, *Biochem. J.* 1953; 55: 416-421.