

마늘 및 생강추출물의 DNA 손상억제작용

강진훈 · 안방원 · 이동호 · 변한석 · 김선봉 · 박영호
釜山水産大學 食品工學科

Inhibitory Effects of Ginger and Garlic Extracts on the DNA Damage

Jin-Hoon Kang, Bang-Weon Ahn, Dong-Ho Lee, Han-Seok Byun,
Seon-Bong Kim and Yeung-Ho Park

Department of Food Science and Technology, Pusan National Fisheries University, Pusan

Abstract

The inhibition mechanism of DNA damage by lipid peroxidation was studied through the reaction systems of plasmid pBR322 DNA, linoleic acid and the ethanol extracts obtained from ginger and garlic. The DNA damage was greatly inhibited by the addition of ginger and garlic extracts, and their scavenging effects of active oxygens were also great. It is considered that the inhibitory effects of these extracts on the DNA damage are mainly due to their scavenging effects of active oxygen radicals.

Key words: DNA damage, linoleic acid peroxidation, inhibition of DNA damage, extracts of ginger and garlic

서 론

지질이 산화하게 되면 활성라디칼, 과산화물을 비롯하여 저분자 카르보닐화합물 등 각종 활성화합물이 생성되는데, 이들 활성화합물과 노화와는 밀접한 상관관계가 있다고 알려지고 있어⁽¹⁾ 관심이 고조되고 있다.

이들 활성화합물중 특히 과산화물은 그 자신이 독성⁽²⁾ 및 변이원성^(3,4)을 나타내므로 식품의 안정성상 문제가 되고 있다. 또한, 생성된 活性酸素種은 DNA 손상작용에 커다란 역할을 한다는 것이 김선봉 등⁽⁵⁾에 의하여 밝혀졌다.

지질산화과정에서 생성되는 이들 活性酸素種은 외관상 산화가 인정되지 않는 산화초기에도 급격히 생성될 뿐만 아니라⁽⁶⁾ 지질과의 반응성 또한 기저상태의 산소에 비하여 약 1450배에 달하므로⁽⁷⁾ 지질의 초기산화반응을 촉매하는 커다란 요인이기도 하다.

따라서 산화초기에 생성하는 활성산소종의 생성을 억제 내지는 불활성화시키고 이들 활성화합물의 생성에 의

한 DNA 손상을 억제시킬 수 있는 DNA 손상억제 인자를 검색하는 것이야말로 식품의 안정성 측면으로 보아 중요하다고 하겠다.

그러나, 우리나라에서는 마늘, 생강, 양파 등 항산화효과가 있는 것으로 알려져 있는 천연물이 많이 있음에도 불구하고 이들의 항산화성에 관해서는 下 등^(8,9)의 보고가 있을 뿐, DNA 손상억제 작용에 관하여 보고된 것은 거의 없다.

따라서, 본 연구에서는 지질산화에 의한 DNA 손상억제 기구를 밝히기 위하여 가정에서 상용하는 마늘, 생강 등의 천연물에서 얻은 항산화성분을 linoleic acid와 DNA의 반응계에 첨가하고 37°C에서 반응시키면서 이들 천연항산화 성분의 DNA 손상억제능을 조사하였으며 이와 함께 linoleic acid 산화중에 생성하는 活性酸素種의 소거능도 조사하였다.

실험재료 및 실험방법

실험재료

본 실험에서 사용한 DNA는 *E. coli* HB 101에서 추출한 plasmid pBR322 DNA와 Sigma Chem. Co.에

Corresponding author: Jin-Hoon Kang, Department of Food and Nutrition, Kosin College & Korea Theological Seminary 149-1, Dongsam-dong, Youngdo-gu, Pusan 606-080

서 구입한 청어정자의 DNA를 사용하였으며 DNA와 의 반응에 사용한 모델지방산은 linoleic acid(Sigma Chem. Co.)이었다. 活性酸素消去劑로는 superoxide dismutase(SOD, Toyobo Chem. Co.) 및 catalase(Sigma Chem. Co.)를 사용하였고, 지질산화에 의한 DNA 손상억제 작용을 조사하기 위하여 사용한 천연항산화 성분은 가정에서 상용하는 마늘과 생강에서 추출하였다.

DNA의 추출과 定量分析

Plasmid pBR322 DNA의 추출은 Rodriguez와 Tait⁽¹⁰⁾의 miniscreen法에 따라 행하였고 DNA의 정량분석은 由岐⁽¹¹⁾의 방법으로 실시하고 그 손상정도는 반응전의 DNA량을 100%로 하여 반응시간에 따른 감소율로 나타내었다.

Agarose gel 전기영동

Agarose gel 전기영동은 Dillon 등⁽¹²⁾의 방법에 따라 1% agarose(半井化學, 日本)를 사용하여 행하였다.

천연항산화 성분의 추출

마늘 및 생강中の 항산화성분은 下 등⁽⁸⁾의 방법에 따라 다음과 같이 추출하였다.

즉, 마늘, 생강을 세정, 세절한 것으로 각 500g씩을 취하여 ethanol(N_2 gas를 吹入하여 산소를 제거하고 사용전에 냉장고에 보관하여 둔 것) 1.5배량을 가한 후 N_2 gas를 吹入하면서 균질화하였다. 이것을 원심분리(10,000rpm, 10分)하고 상층의 맑은 액을 供試하였다.

천연항산화 성분과 DNA 및 linoleic acid와의 반응

pBR322 DNA 600 μ g, linoleic acid 6mM과 마늘 및 생강의 추출물을 그 최종농도가 185, 370, 555 및 740 μ g(dry weight)이 되도록 조절하여 첨가한 후 혼화시켜 37°C에서 반응시키고 DNA 손상정도를 전기영동과 DNA의 정량분석을 통하여 조사하였다.

과산화물가(peroxide value, POV)의 측정

POV의 측정은 A.O.A.C법⁽¹³⁾에 따라 실시하였다.

Superoxide anion과 과산화수소의 측정

Superoxide anion($\cdot O_2^-$)과 과산화수소(H_2O_2)의 생성은 Ponti 등⁽¹⁴⁾ 및 Hozumi⁽¹⁵⁾의 방법에 준하여 각각 측정하였다.

결과 및 고찰

생강 및 마늘추출물의 DNA 손상억제작용

Fig. 1은 생강추출물의 최종농도가 185, 370, 555 및 740 μ g이 되도록 linoleic acid와 pBR322 DNA의 반응체에 혼화시켜 37°C에서 반응시킨 결과이다.

본 실험에서 나타난 DNA band는 Form I(covaleently closed circular), Form II(open circular) 및 Form III(linear) DNA이었으며 이동도는 Form I DNA, Form III DNA, Form II DNA의 순으로 나타났다⁽¹⁶⁾. 그 결과 반응 2일의 경우 생강추출물을 넣지 않은 대조구(C_2)에서는 Form I DNA가 완전히 손상되어 Form II 및 Form III DNA의 형태로 이행되었으나 생강추출물의 첨가구에서는 Form I DNA가 손상을 받은 상태가 감소되었으며 반응 3일째에도 이러한 DNA 손상억제능이 생강추출물의 첨가량이 많을수록 더욱 뚜렷하게 나타났다. 즉, 반응 3일의 경우 대조구에서는 Form II DNA가 Form III DNA로 점차 이행되어 지질산화 생성물에 의한 DNA의 손상정도가 크게 나타났으나, 370 μ g이상의 생강추출물을 첨가한 반응계에서는

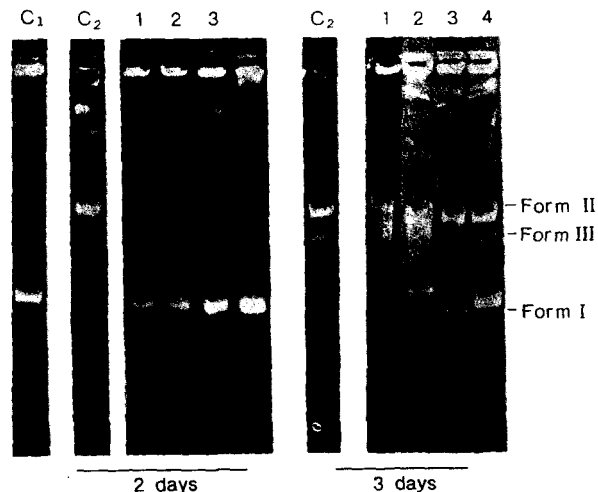


Fig. 1. Agarose gel electrophoretic patterns of pBR322 DNA incubated with linoleic acid in the presence of ginger extracts at 37°C.

C_1 , DNA only(600 μ g); C_2 , C_1 +linoleic acid(6mM) 1, C_2 +ginger extracts(185 μ g); 2, C_2 +ginger extracts(370 μ g); 3, C_2 +ginger extracts(555 μ g); 4, C_2 +ginger extracts(740 μ g).

Form I DNA가 많이 남아 있는 것으로 나타나 DNA 손상억제능이 오래 지속되는 것을 알 수 있다.

Table 1은 생강추출물의 DNA 손상억제능을 정량적으로 분석한 결과이다.

Table 1. Inhibitory effects of ginger extracts on the DNA damage during linoleic acid peroxidation at 37°C

Concentrations of ginger extracts	Incubation time, days			
	1	2	3	4
None	70.1	77.7	91.7	97.2
185 μg	50.1	60.0	65.7	77.9
370 μg	31.9	38.4	54.0	67.3
555 μg	14.8	24.4	35.8	46.8
740 μg	7.8	15.3	25.5	46.0

대조구에서는 반응 1일째에 70%이상의 감소율을 나타내었으며 반응 3일부터는 90%이상의 DNA가 감소하였으나 생강추출물의 첨가구에서는 반응 4일째까지 80%이하, 특히 555μg 이상의 농도에서는 50%이하의 감소율을 나타내어 대조구의 97%에 비하여 2배 이상의 낮은 감소율을 나타내었다.

이상의 결과, 생강추출물의 DNA 손상억제능이 상당히 뛰어난 것을 알 수 있으며 반응 3일째까지 생강추출물을 첨가한 반응계에서 Form III DNA가 형성되지 않는 것으로 보아 DNA의 이중나선구조중 單鎖切斷이 선행됨을 시사하고 있다.

또한, POV의 변화를 측정된 결과에서는 생강추출물을 첨가한 반응계에서는 반응 4일 동안 20 millieq./kg을 초과하지 않아, 대조구에 비하여 1/2~1/3의 POV를 나타내어 생강추출물의 항산화력이 뛰어난 것을 알 수 있다(Fig. 2).

한편, 마늘에서 항산화성분을 추출하고 linoleic acid와 pBR322 DNA의 반응계에 첨가하여 37°C에서 반응시키고 DNA 손상억제 작용을 조사하였는데 그 결과는 Fig. 3에 나타내었다.

즉, 마늘추출물을 첨가한 반응계에서는 반응 2일째 185 μg과 370 μg의 농도에서 Form I DNA가 대부분 손상되어 Form II DNA로 이행하여 대조구와 거의 비슷한 정도로 DNA 손상이 진행되었으나 555 μg 이상의 농도에서는 Form I DNA가 상당히 남아 있어 DNA의 손상이 크게 억제되었다. 이러한 마늘의 DNA 손상억제능은

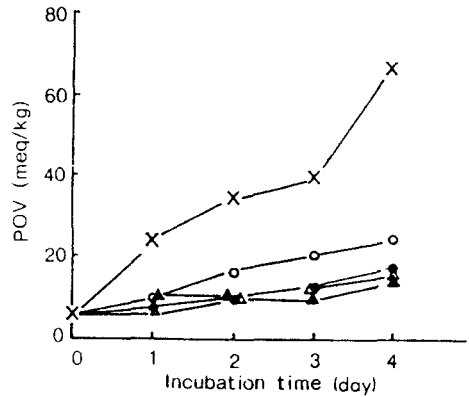


Fig. 2. Antioxidative activity of ginger extracts during linoleic acid peroxidation at 37°C. 0 μg (X-X), 185 μg (○-○), 370 μg (●-●), 555 μg (Δ-Δ), 740 μg (▲-▲).

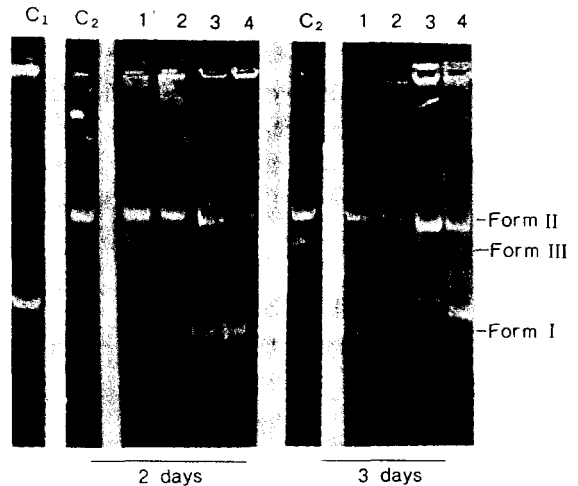


Fig. 3. Agarose gel electrophoretic patterns of pBR 322 DNA incubated with linoleic acid in the presence of garlic extracts at 37°C. Garlic extracts were incubated under the conditions given in Fig. 1.

농도에 따른 차이가 다소 나타나고 생강추출물보다 DNA 손상억제능이 약한 것으로 나타났다.

Table 2는 마늘추출물의 DNA 손상억제능을 정량적으로 분석한 결과인데 마늘추출물의 농도가 증가할 수록 DNA 손상억제 효과가 컸으며 반응 4일째 대조구의 97.

Table 2. Inhibitory effects of garlic extracts on the DNA damage during linoleic acid peroxidation at 37°C

Concentrations of garlic extracts	Incubation time, days			
	1	2	3	4
None	70.1	77.7	91.7	97.2
185 µg	61.3	72.5	78.7	89.0
370 µg	41.6	46.5	67.3	68.0
555 µg	40.5	44.9	47.3	54.5
740 µg	30.4	36.4	40.3	49.9

2%에 비하여 555µg과 740µg의 경우에는 46%이상의 낮은 감소율을 나타내었다.

한편, 마늘추출물의 항산화성을 조사하여 Fig 4에 나타내었는데 생강의 경우와 마찬가지로 추출물의 농도가 증가할 수록 linoleic acid의 산화가 크게 억제되어 370 µg 이상의 농도에서는 반응 4일째까지 20millieq./kg 이하이었다. 그러나, 마늘추출물의 이러한 항산화효과가 생강추출물과 거의 비슷한 정도로 나타났음에도 불구하고 DNA 손상억제능에 차이가 나는 것은 지질의 산화반응에서 생성되는 과산화물과 그에 수반하는 각종 활성라디칼의 생성억제능보다 산화초기에 다량으로 생성하는 활성산소종 소거능의 차이⁽¹⁵⁾에 기인하는 것으로 생각된다.

생강 및 마늘추출물의 活性酸素消去能

생강과 마늘추출물의 DNA 손상억제능이 linoleic

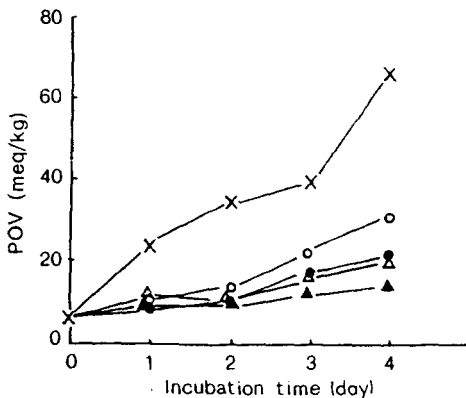


Fig. 4. Antioxidative activity of garlic extracts during linoleic acid peroxidation at 37°C. Garlic extracts were incubated under the conditions given in Fig. 2.

acid의 산화초기에 큰 것으로 보아 活性酸素種의 소거능도 클 것으로 생각되어 이들 추출물을 linoleic acid와 혼합시키고 superoxide anion($\cdot O_2^-$)과 과산화수소(H_2O_2)의 경시적인 생성을 조사하였는데 생강추출물의 superoxide anion 및 과산화수소의 소거능을 조사한 것은 Fig 5 및 Fig 6과 같다.

Superoxide anion의 경우, linoleic acid만의 대조구에서는 반응초기에 빠른 속도로 생성하였다가 반응2일에 최고치에 달한 반면, 생강추출물의 첨가구에서는 농도에 관계없이 그 생성량이 크게 감소되었다(Fig 5). 과산화수소의 생성량도 Fig 5와 마찬가지로 생강추출물에 의하여 크게 감소되었으며 농도에 따른 차이는 거의 없었다.

한편, 마늘추출물의 활성산소소거능을 조사한 것은 Fig 7 및 Fig 8과 같은데 생강추출물과 마찬가지로 생성한 superoxide anion(Fig. 7)과 과산화수소(Fig. 8)의 소거능이 상당히 컸으며 농도에 따른 차이는 거의 없었으나, 활성산소소거능에 있어서는 마늘추출물이 생강추출물보다 다소 약한 것으로 나타났다.

이와 관련하여 김등⁽⁶⁾은 linoleic acid의 산화생성물의 DNA 손상작용에 있어서 活性酸素種의 역할이 크다고 밝혔으며, 또한, 이들 活性酸素種은 linoleic acid의 산화초기에 생성이 빠르고 그 수명이 비교적 짧은 것으로

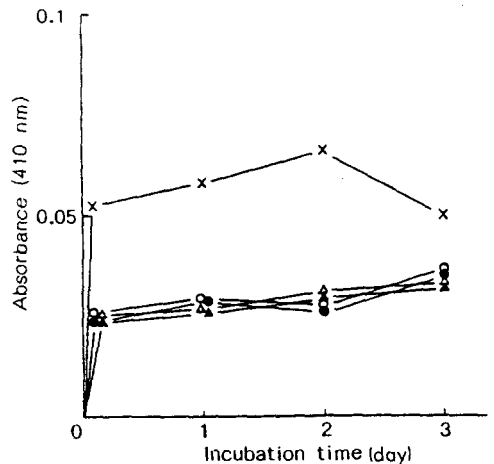


Fig. 5. Inhibitory effects of ginger extracts on the formation of superoxide anion during linoleic acid peroxidation at 37°C. Experiments were done under the conditions given in Fig. 2.

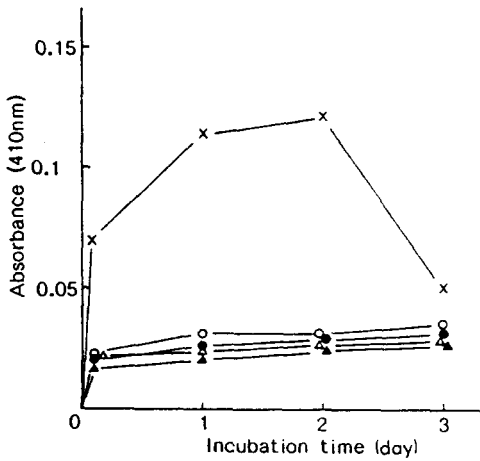


Fig. 6. Inhibitory effects of ginger extracts on the formation of hydrogen peroxide during linoleic acid peroxidation at 37°C.

Experimental conditions are shown in Fig. 5.

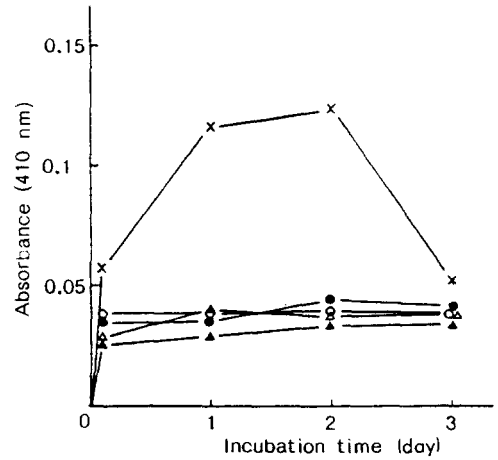


Fig. 8. Inhibitory effects of garlic extracts on the formation of hydrogen peroxide during linoleic acid peroxidation at 37°C.

Experimental conditions are shown in Fig. 5.

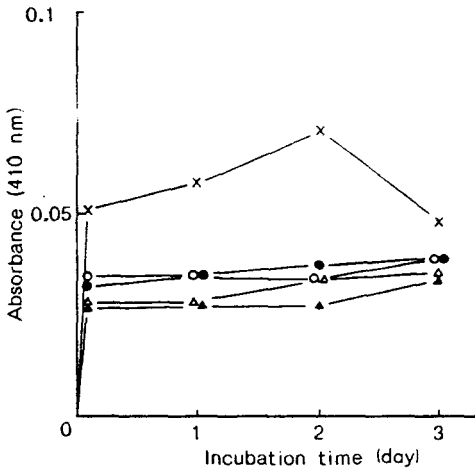


Fig. 7. Inhibitory effects of garlic extracts on the formation of superoxide anion during linoleic acid peroxidation at 37°C.

Experimental conditions are shown in Fig. 5.

나타났다⁽¹⁶⁾.

이와 같이, 마늘 및 생강추출물의 활성酸素消去能이 상당히 큰 것으로 보아, 특히, 이들 추출물은 linoleic acid 산화초기에 생성되는 활성酸素種을 크게 消去함과 동시

에 POV의 증가도 크게 억제하는 것으로 보아 지질과산화물의 형성에 관계하는 peroxy radical, alkoxy radical 등의 free radical의 消去能도 클 것으로 예상되어 DNA 손상억제능이 더욱 커지는 것으로 생각된다.

따라서, 지질산화에 의한 DNA 손상은 지질의 산화초기에도 일어나고, 활성酸素種의 생성도 이시기에 급격하게 이루어지며, 특히, 활성酸素種은 그 반응성이 아주 풍부할 뿐만 아니라 그 자체가 변이원성도 가지는 것으로 알려져 있어^(17,18) 전통적으로 가정에서 상용하는 이들 천연식품의 이용은 지질산화에 의한 DNA 손상억제를 기대할 수 있어 성인병 및 노화등의 측면에서 기초자료가 되리라 기대된다.

요 약

지질의 산화로 일어나는 DNA 손상 작용에 대한 천연 항산화성분의 억제작용과 그 기구를 조사하기 위하여 가정에서 常用하는 생강과 마늘에서 추출한 항산화성분을 각각, linoleic acid와 pBR322 DNA의 반응계에 첨가하여 37°C에서 반응시키면서 경시적인 DNA 손상억제능을 조사하였다. 또한, linoleic acid와 생강 및 마늘추출물의 반응계에서 경시적으로 생성하는 superoxide anion($\cdot O_2^-$)과 과산화수소(H_2O_2)를 측정하여 이들 추

출물의 活性酸素消去能도 아울러 比較·檢討하고 다음과 같은 결과를 얻었다.

생강 및 마늘추출물을 첨가한 반응계에서는 대조구에 비하여 DNA 손상이 크게 억제되었으며 생강추출물의 DNA 손상억제능이 쏘농도에 걸쳐 반응 4일까지 유지된 것으로 나타나 555 μ g 이상의 농도에서 동일한 경향을 나타내는 마늘추출물에 비하여 상당히 큰 것을 알 수 있었다. 또한, 이들 추출물은 linoleic acid의 산화과정에서 생성된 superoxide anion과 과산화수소의 소거능이 컸으며 이러한 작용은 생강추출물이 마늘추출물보다 큰 것으로 나타나, 兩추출물의 DNA 손상억제능이 活性酸素種의 消去能의 차이에 기인되는 것으로 나타났다. 한편, 上記 추출물의 항산화력도 뛰어나 반응 4일까지 POV가 20millieq./kg 이하로 나타났는데 이것으로 보아 活性酸素消去能 뿐만 아니라 과산화물의 생성에 관여하는 각종 free radical의 소거능도 클 것으로 생각된다.

문 헌

1. 美濃眞 : 老化につながる化學反應, 老化, 化學同人, 東京, p. 27(1985)
2. 永田親義 : 變異原性および發がん, 過酸化脂質と生體(內山充, 松尾芳光, 嵯峨井勝編), 學會出版センター, 東京, p. 262(1985)
3. Yamaguchi, T. and Yamashita, T. : Mutagenic activity of autoxidized linoleic and linolenic acid. *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 2225(1979)
4. Yamaguchi, T. and Yamashita, T. : Mutagenicity of hydroperoxides of fatty acids and some hydrocarbons. *Agric. Biol. Chem.*, **44**(7), 1675(1980)
5. 金善奉·姜珍燻·李龍雨·金仁洙·朴榮浩 : Linoleic acid 산화생성물의 DNA 손상 작용에 있어서의 活性酸素種의 역할. 한국식품과학회지, **19**(4), 311(1987)
6. 姜珍燻·廉東敏·催守安·金善奉·朴榮浩 : Linoleic acid의 酸化에 의한 活性酸素種의 생성. **19**(6), 471(1987)
7. 宮川高明 : 酸素酸化反應とその防止の機構. ニューフード—インダストリー, **26**(10), 49(1984)
8. 卞韓錫·尹好東·金善奉·朴榮浩 : 생강추출물의 魚油에 대한 抗酸化效果. 韓水誌, **19**(14), 327(1986)
9. 卞韓錫·尹好東·金善奉·朴榮浩 : 양파 및 겨자粉末抽出物의 魚油에 대한 抗酸化效果. 韓水誌, **19**(5), 453(1986)
10. Rodriguez, R.L. and Tait, R.C. : *Recombinant DNA techniques; An Introduction*. Rodriguez, R.L. and Tait, R.C.(ed). Addison-Wesley Publishing company, Massachusetts, p.50(1983)
11. 由岐英剛 : DNAおよびRNAの定量, 生化學分析法, 南江堂, 東京, p.276(1984)
12. Dillon, J.R., Benzonsen, G.S. and Yeung, K.H. : Gel electrophoresis. In *Recombinant DNA methodology*. Dillon, J.R., Nasim, A. and Nestman, E.R.(ed). Willy and Sins. Inc., New York, p.13(1984)
13. A.O.A.C. : *Official Methods of Analysis*. 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.. p.507(1984)
14. Ponti, V., Dianzani, M.U., Cheeseman, K. and Slater, T.F. : Studies on the reduction of nitroblue tetrazolium chloride mediated through the action of NADH and phenazine methosulphate. *Chem. Biol. Interaction*, **23**, 281-291(1978)
15. Hozumi, M. : Production of hydrogen peroxide by 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide. *Gann*, **50**, 83(1969)
16. Osterman, L.A. : Electrophoresis of nucleic acid. *Methods of protein and nucleic acid research*. Springer-Verlag, New York, p.104(1984)
17. Ames, B.N. : Lipid peroxidation and oxidative damage to DNA. In *Lipid peroxides in Biology and Medicine*. Yagi, K.(ed). Academic press, p.339(1982)
18. Weitzman, S.A. and Stossel, T.P. : Effects of oxygen radical scavengers and antioxidants on phagocytes-induced mutagenesis. *J. Immunol.*, **128**, 2770(1982)

(1987년 9월 18일 접수)