

Oxidative DNA 손상에 대한 Quercetin 및 그 배당체들의 유전독성억제효과와 작용기전

김수희 · 허문영*
강원대학교 약학대학

Antigenotoxicity and Action Mechanism of Quercetin and its Glycosides against Oxidative DNA Damage

Soo Hee Kim and Moon Young Heo*

College of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

(Received July 9, 1999 / Accepted August 9, 1999)

ABSTRACT : Quercetin and its glycosides showed a strong free radical scavenging effect to DPPH radical generation. However, there were not big differences between quercetin aglycone and glycosides under experimental condition of this study. On the other hand, quercetin had pro-oxidant effect in bleomycin-dependent DNA assay. Quercetin aglycone and its glycosides, quercitrin inhibited H_2O_2 - induced DNA damage in CHL cells. They also have an anticlastogenicity toward DNA breakage agent by radical generation like bleomycin. These results indicate that quercetin aglycone and its glycosides are capable of protecting the free radical generation induced by reactive oxygen species like H_2O_2 . The mechanism of inhibition in hydrogen peroxide-induced genotoxicity may be due to their free radical scavenging properties. Therefore, quercetin aglycone and its glycosides may be useful chemopreventive agents by protecting of free radical generation which are involved in carcinogenesis and aging. However, quercetin and its glycosides must also carefully examined for pro-oxidant properties before being proposed for use *in vivo*.

Key words: Quercetin Aglycone and its glycosides, Hydrogen peroxide, Free radical scavenging effect, anticlastogenicity, Flavonoids, Antigenotoxicity, Comet assay, Micronucleus test, Cancer chemopreventive agent

서 론

최근까지 식물성 polyphenol 화합물중 flavonoid 화합물은 약 200여종으로서 식물계에 널리 분포하고 있으며 사람들에게 일상적으로 섭취되고 있는 물질이기 때문에 여러가지 생리활성이 연구되어 왔다(Kuhnau, 1976, Pierpoint, 1986). 사람의 1일 섭취량은 평균 1g 이상이라고 추정될 정도로 많은 양이며, 이 중 약 170 mg 정도가 4-oxoflavonoids(flavones, flavanones, chalcone, flavonols)이며, quercetin glycosides와 kaempferol glycosides 같은 flavonols은 약 50 mg 정도가 섭취되고 있다고 알려지고 있다(Brown, 1980).

한편, quercetin은 *in vivo* 시험에서 일부 보고(Pamuku,

1980)를 제외하고 발암성을 나타내지 않았으며 오히려 antimutagenic, 또는 anticarcinogenic 활성을 나타낸다는 보고가 많다(Ogawa *et al.*, 1985, Shah *et al.* 1986). 저자등도 그동안 여러 연구를 통해서 flavonoid 화합물 중 galangin을 비롯한 morin, fisetin, quercetin, flavonol 및 kaempferol 등 flavonol 유도체들의 유전독성 억제효과가 비교적 컸음을 보고한 바 있다(Heo *et al.*, 1992, Heo *et al.*, 1996). 한편 flavonoid는 폴리페놀화합물로서 항산화작용과 프리라디칼 소거작용이 큰 물질이다.

본 연구에서는 전보(김 등, 1996, 김 등, 1998)에 보고한 바 있는 1차발암물질 N-methyl-N-nitroso urea(MNU) 및 2차발암물질 benzo(a)pyrene 유도체 유전독성에 대한 quercetin 및 배당체들의 억제효과에 이어서 free radical 소거작용을 비교연구 하는 한편, 활성산소종에 의한 유전독성에 미치는 영향을

*To whom correspondence should be addressed.

연구하여 산화적 스트레스에 의한 chemopreventive effect를 입증하려고 시도하였다(Kitta *et al.*, 1992, Ohtka *et al.*, 1979).

이에, quercetin 및 quercetin glycosides들을 대상으로 하여 *in vitro*에서 free radical 소거능을 비교 연구하고, hydroxyl radical($\cdot\text{OH}$) 생성물질로서 H_2O_2 유도 DNA손상에 대한 억제효과를 검정하였으며 bleomycin과 같은 라디칼생성에 의한 염색체손상물질에 대한 억제효과를 규명하였기에 보고하는 바이다.

실험방법

시약 및 재료

Quercetin과 rutin은 Sigma사(St.Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 isoquercitrin은 Carl Roth GmbH+Co사(Karlsruhe, Germany)에서 공급받았다. 또한 quercitrin과 hyperin은 부경대학교 최재수교수로 부터 분양받았으며, 모든 flavonoid 검체들은 TLC와 HPLC로 순품을 확인하고 사용하였다. FBS등 세포배양에 필요한 시약들은 GIBCO사(Grand Island, NY, USA)에서 구입하여 사용하였다.

실험동물

본 실험에서 사용되는 C57BL mice는 (주)한국실험동물에서 공급받아 강원대 약대 동물사육실내에 있는 양압의 무균 동물챔버에서 $23\pm 1^\circ\text{C}$ 및 상대습도 $55\pm 7\%$ 의 조건으로 7~10일 적응시킨 후 사용했다. 사료는 삼양유지의 마우스용 pellet사료를 주며, 물은 자유롭게 먹게 하고, 12h/12h(L/D) cycle의 조건에서 실험하였다.

세포 및 배양방법

본 실험의 *in vitro* 연구에서 사용되는 cell line은 국립독성 연구소로부터 분양 받아 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.

프리라디칼소거작용

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 활용하였다. 본 실험에서는 120 μM 의 DPPH 2 ml에 sample의 소정 농도용액 2 ml를 가하여 5분간 섞고 30분간 방치후 520 nm에서 측정하였다(Fugita *et al.*, 1988). 한편, 모든 data는 3회 실시하여 통

계처리 하였다.

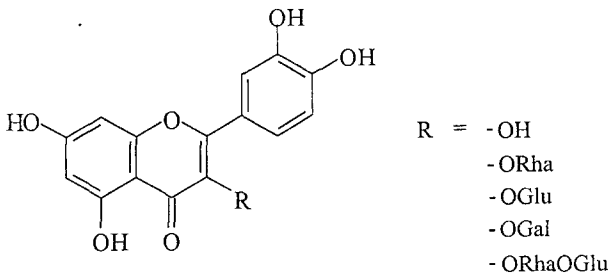
Pro-oxidant effect

Bleomycin-Fe(III) dependent DNA degradation에 미치는 flavonoid glycosides의 pro-oxidant 효과를 알아보았다. 1 ml/ml calf thymus DNA 100 μl 에 500 $\mu\text{g/ml}$ bleomycin 100ul, 0.25 mM FeCl_3 100 μl , 50 mM MgCl_2 , 100 μl , 60 mM KH_2PO_4 -KOH buffer (pH 7.0) 500 μl , 소정농도의 검액을 총 1 ml가 되도록 가해 1 hr 동안 37°C 에서 incubation시킨 후 1% TBA에 반응시켜 532 nm에서 흡광도를 측정하였다(Okezie *et al.*, 1993). 한편, 모든 data는 3회 실시하여 통계처리 하였다.

In vitro single cell gel electrophoresis (SCGE, Comet assay)

In vitro 실험으로서 CHL cell을 배양하여 SCGE 실험을 실시하였다. 양성 대조 물질로는 H_2O_2 를 사용하였다. Cell 5×10^4 개를 24-well에 심고, 24 hr 후에 flavonoid glycosides를 농도별로 처리하고 12 hr 후에 양성대조물질인 H_2O_2 (최종농도 10^{-3}M)를 처리하였다. 30분 후 24-well에 trypsin 2 ml를 넣어 cell을 harvest하여 test tube에 취하였다. 1500 rpm으로 원심 분리 후 PBS(without Cl^- , Mg^{2+})로 세척하고 다시 1500 rpm으로 원심분리하였다. 상층액을 버리고 각각에 0.5%-LMPA (low melting point agarose)를 200 μl 가해준 뒤 voltex를 각각 10초씩 해주었다. 0.65%-NMPA(normal melting point agarose) 100 μl 를 미리 입힌 slide (fully frosted)에 이 액 50 μl 를 떨어뜨린 후 cover slide로 덮었다. 냉장고에서 약 15분간 굳힌 뒤 cover slide를 제거하고 그 위에 다시 0.5%-LMPA를 100 μl 떨어뜨린후 cover slide로 덮고 냉장고에서 15분간 굳혔다. Cover slide를 제거한 후 lysis buffer(2.5M NaCl, 100 mM Na_2EDTA , 10 mM Tris, pH 10, 10% DMSO, 1% triton X-100)에 담가서 약 1시간 lysis시켰다. 그 후 electrophoresis buffer (300 mM NaOH, 1 mM Na_2EDTA , pH 13)에 20분간 담가 정치하였다. Electrophoresis apparatus에 slide를 양극쪽으로 배열한 뒤 25V, 300 mA에서 15분간 electrophoresis하였다. Slide를 꺼내 10분씩 3번 0.4M Tris (pH 7.5)에 담가 중화하였다. Tray에 걸여 충분히(15분) 건조시킨 후 ethidium bromide (2 $\mu\text{g/ml}$)를 20 μl 씩 각각에 떨어뜨려 염색한 후 515~560 nm의 excitation filter와 590 nm의 barrier filter를 이용하여 형광현미경으로 관찰하였다. 이때 관찰은 image analyzer인 KOMET 3.1(Kinetic Imaging, England)를 사용하여 분석하였다(Singh *et al.*, 1988).

소핵시험(*In vivo* micronucleus test)



Quercetin glycosides	Common names	Sugar class
Quercetin	Quercetin	Aglycone
Quercetin 3-rhamnoside	Quercitrin	Pentose
Quercetin 3-glucoside	Isoquercitrin	Hexose
Quercetin 3-galactoside	Hyperin	Hexose
Quercetin 3-rhamnosyl glucoside	Rutin	Pentose+Hexose

Fig. 1. Structures of quercetin and quercetin glycosides.

In vivo micronucleus 시험을 ICR mice (♂, 25~30 g)를 사용하여 실시하였으며 실험군당 마우스는 5마리로 하였다. 양성대조물질로서는 bleomycin을 사용하였다. 마우스의 말초혈액중 reticulocyte를 이용하는 소핵실험을 실시하였다. 시험의 개요는 bleomycin을 투여하고 48시간 후 꼬리정맥에서 말초혈액을 채취하여 이를 acridine orange가 coating 되어 있는 슬라이드 상에 떨어뜨리고 커버슬라이드를 덮은 다음 형광현미경으로 망상적혈구(reticulocytes, RETs)중 소핵을 가진 망상적혈구(micronucleated reticulocytes, MNRETs)의 빈도를 관찰하였으며 이때 마우스 한마리당 1000개의 RETs를 관찰하였다(Hayashi *et al.*, 1990). 한편, 유전독성억제실험을 위해서는 양성대조물질인 bleomycin(25 mg/kg, i.p.)와 flavonoid (1, 10, 100 mg/kg)을 각각 경구투여한 후 처음 투여 48시간 후 말초혈액을 채취하여 소핵시험을 실시하였다.

통계처리

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

실험결과

프리라디칼소거작용

Table 1에서 나타낸 것처럼 프리라디칼소거작용에서는 quercetin 및 quercetin glycosides 모두 SC₅₀이 10⁻⁴-10⁻³ M 수준의 대부분 유의성 있는 활성을 나타내었다. 활성크기의 순서는 quercitrin>quercetin>rutin>hyperin>isoquercitrin이었다. 한편, quercetin비배당체와 배당체들 사이에 있어서는 억제활성의 차이는 크지 않았지만 quercitrin을 제외하고 quercetin

Table 1. The free radical scavenging effect of flavonoid glycoside

Treatment (M)	OD _{520nm}		SC ₅₀ (M)
	Mean ± SD	% Inhibition	
Positive	0.676 ± 0.014		
Quercetin	10 ⁻⁷	0.675 ± 0.001	0.1
	10 ⁻⁶	0.672 ± 0.003	0.5
	10 ⁻⁵	0.481 ± 0.007**	28.9
	10 ⁻⁴	0.344 ± 0.016**	49.1
Rutin	10 ⁻⁷	0.653 ± 0.007	3.4
	10 ⁻⁶	0.634 ± 0.002**	6.3
	10 ⁻⁵	0.550 ± 0.008**	18.6
	10 ⁻⁴	0.316 ± 0.005**	53.2
Quercitrin	10 ⁻⁷	0.652 ± 0.005	3.5
	10 ⁻⁶	0.654 ± 0.001	3.2
	10 ⁻⁵	0.539 ± 0.008**	20.2
	10 ⁻⁴	0.286 ± 0.011**	57.3
Isoquercitrin	10 ⁻⁷	0.684 ± 0.010	1.1
	10 ⁻⁶	0.674 ± 0.011	0.3
	10 ⁻⁵	0.562 ± 0.004**	16.8
	10 ⁻⁴	0.326 ± 0.009**	51.7
Hyperin	10 ⁻⁷	0.667 ± 0.007	1.3
	10 ⁻⁶	0.662 ± 0.006	2.1
	10 ⁻⁵	0.560 ± 0.004**	17.1
	10 ⁻⁴	0.318 ± 0.013**	52.9

¹n=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

quercetin 비배당체가 배당체들 보다 다소 활성이 크게 나타난 것으로 보였다. 본 실험은 DPPH free radical의 소거능에 관한 실험으로서 DPPH radical은 hydroxyl radical과 비슷한 거동을 하는 바 quercetin 및 quercetin glycosides는 강한 프리라디칼 소거능이 있는 것으로 판단되었다.

Table 2에 bleomycin-Fe(III) dependant DNA degradation에 의한 pro-oxidant effect를 나타내었다. 실험대상 quercetin과 배당체들중에서 pro-oxidant effect를 나타내는 것은 quercetin이 매우 컸으며 hyperin 을 제외하고 rutin, isoquercitrin, quercitrin 등은 처리농도 10⁻⁴M에서 약한 pro-oxidant effect를 나타내었다.

Single cell gel electrophoresis (SCGE)

Quercetin과 배당체인 quercitrin을 대상으로하여 H₂O₂유도 DNA손상에 미치는 효과를 COMET assay로 실시하여 Table 3에 나타내었다. Comet assay에서 중요한 DNA 손상 지표인 Tail length(μm)에 있어서 quercetin은 10⁻⁴M에서 29.9%, isoquercitrin은 10⁻⁴M, 10⁻⁵M, 10⁻⁶M에서 각각 4.2%, 30.8%, 25.9%의 억제효과를 나타내었다. Olive Tail Moment

Table 2. The pro-oxidant effect of flavonoid glycosides on bleomycin-Fe(III) dependent DNA degradation

Treatment (M)	OD _{532nm}				
	Ind. Value		Mean ± SD		
Solvent Control	0.003	0.023	0.010	0.012 ± 0.010	
Quercetin	10 ⁻⁶	0.039	0.038	0.044	0.040 ± 0.003*
	10 ⁻⁵	0.288	0.296	0.297	0.294 ± 0.005**
	10 ⁻⁴	0.094	0.153	0.081	0.109 ± 0.038**
Rutin	10 ⁻⁶	0.003	0.002	0.001	0.002 ± 0.001
	10 ⁻⁵	0.018	0.018	0.016	0.017 ± 0.001
	10 ⁻⁴	0.060	0.061	0.053	0.058 ± 0.004**
Quercitrin	10 ⁻⁶	0.003	0.005	0.004	0.004 ± 0.001
	10 ⁻⁵	0.028	0.025	0.025	0.026 ± 0.002*
	10 ⁻⁴	0.079	0.083	0.075	0.079 ± 0.004**
Isoquercitrin	10 ⁻⁶	0.003	0.001	0.006	0.003 ± 0.003
	10 ⁻⁵	0.013	0.014	0.018	0.015 ± 0.003
	10 ⁻⁴	0.082	0.083	0.079	0.081 ± 0.002**
Hyperin	10 ⁻⁶	0.008	0.007	0.007	0.007 ± 0.001
	10 ⁻⁵	0.003	0.002	0.004	0.003 ± 0.001
	10 ⁻⁴	0.006	0.008	0.008	0.007 ± 0.001

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

*P<0.05, **PM0.01

에 있어서는 quercetin은 10⁻⁶M, 10⁻⁵M, 10⁻⁴M에서 각각 6.2%, 38.3%, 41.1%의 농도의존적인 억제효과를 나타내었으며 quercitrin은 10⁻⁶M, 10⁻⁵M, 10⁻⁴M에서 각각 23.0%, 56.8%, 48.2%의 억제효과를 나타내었다.

In vivo micronucleus test

마우스에서 bleomycin유도 MNRET에 대한 quercetin 및 배당체 중의 하나인 quercitrin의 효과를 Table 4에 나타내었다. 실험대상 quercetin 및 quercitrin은 뚜렷한 억제경향을 나타내었다. 각 화합물의 투여용량 10mg/kg 및 100 mg/kg에서 각각 quercetin이 73.3%(p<0.05), 81.3%(p<0.01), quercitrin이 70.6%(p<0.01), 84.0(p<0.05)의 억제효과를 나타내었다.

Table 4. The suppressive effect of flavonoid glycosides on

Treatment (mg/kg, p.o.) ^a	MNRETS/1,000RETS ^c		% Suppression
	Ind. Value	Mean ± SE	
Solvent Control	1, 0, 0, 0, 1	0.4 ± 0.2	
Positive ^b	7, 9, 6, 8, 10, 5	7.5 ± 0.7	
Quercetin	1	4, 0, 2, 6, 0	2.4 ± 1.1* 68.0
	10	2, 3, 1, 2, 2	2.0 ± 0.3* 73.3
	100	1, 0, 2, 0, 4	1.4 ± 0.7** 81.3
Quercitrin	1	3, 2, 6, 4, 3	3.6 ± 0.6 52.0
	10	3, 1, 2, 2, 3	2.2 ± 0.3* 70.6
	100	1, 0, 2, 2, 1	1.2 ± 0.3** 84.0

^aSample(p.o.) was administrated with bleomycin(25 mg/kg, i. p.) simultaneously.

Peripheral blood was collected 48hrs after bleomycin treatment. ^bBleomycin(25 mg/kg,i.p.) alone

^cn=5 (positive control group n=6), Significantly different from the positive control group (Student's t-test)

*P<0.05 , **P<0.01

한편, quercetin이 비배당체인 quercitrin 보다 낮은 용량에서도 다소 활성이 높았으나 크지는 않았다.

고 찰

Quercetin 및 그 배당체들의 프리라디칼 소거작용을 검토하였다. Quercetin 및 그 배당체들의 프리라디칼 소거작용에 있어서 Quercetin 및 그 배당체들은 활성이 높게 나타났다. hydroxyl radical(·OH) 유도 세포독성과 DNA손상에 대해서도 억제적으로 작용하여 세포의 산화적 손상을 억제하였다. 또한 라디칼 생성에 의한 DNA breakage agent인 bleomycin 유도 소핵생성에도 quercetin 및 그 배당체 quercitrin이 매우 높은 억제활성을 나타내었다. 한편 quercetin 은 다른 배당체들과는 달리 pro-oxidant 효과가 매우 크게 나타났다.

최근의 Quercetin 및 그 배당체들 대한 항산화효과에 대한 연구가 많이 이루어졌는데, silymarin의 암예방효과가

Table 3. The effect of quercetin and quercitrin against H₂O₂ -induced oxidative DNA damage in CHL cells by COMET assay

Treatment (M)	Tail DNA %	Olive Tail Moment	Tail extent Moment	Tail length (µm)	
Solvent control	17.1 ± 2.1	7.6 ± 1.4	12.4 ± 2.8	61.2 ± 9.2	
H ₂ O ₂ 10 ⁻² M	35.2 ± 2.9	43.3 ± 3.5	56.6 ± 1.9	136.3 ± 2.1	
H ₂ O ₂ + Quercetin	10 ⁻⁶ M	33.9 ± 8.9	40.6 ± 27.5	60.5 ± 45.5	141.0 ± 71.8
	10 ⁻⁵ M	27.7 ± 5.1	26.7 ± 19.6	48.2 ± 33.7	148.0 ± 78.9
	10 ⁻⁴ M	31.8 ± 2.5	25.5 ± 9.8	38.6 ± 5.4	95.5 ± 4.5**
H ₂ O ₂ + Quercitrin	10 ⁻⁶ M	28.3 ± 2.1	33.3 ± 6.5	43.7 ± 12.0	130.5 ± 28.2
	10 ⁻⁵ M	30.3 ± 4.8	18.7 ± 0.7*	35.0 ± 0.1	94.2 ± 23.9
	10 ⁻⁴ M	27.9 ± 2.6	22.4 ± 9.2	36.9 ± 10.0	100.9 ± 14.1

Data were expressed as mean ± SD of two experiments.

Significantly different from the positive control group (Student's t-test) *P<0.05, **P<0.01

oxidation state의 억제와 관련이 있으며(Lahiri-Chatterjee *et al.*, 1999) quercetin이 tert-butyl hydroperoxide 유도 DNA single strand breakage와 세포독성을 억제하며(Sestili *et al.*, 1998) quercetin이 항산화작용으로 gastroprotective effect를 나타내며(Martin *et al.*, 1998) morin이 superoxide에 대한 corneal endothelial cell의 세포상해를 억제하며(Zeng *et al.*, 1998) 임상적으로도 quercetin이 사람에게 있어서 혈장지질의 항산화를 증가시킨다는 보고(Hollman *et al.*, 1997) 등이 있다.

그러나 이같은 flavonoid 성분들의 항산화작용 및 라디칼 소거능과 함께 일부 flavonoid들이 나타내는 pro-oxidant 효과에 대한 보고도 많다. Quercetin 함유 과일주스를 사람에게 투여시 혈장 중에서 과산화지질생성이 감소되었으나 혈장 중 pro-oxidant 효과를 나타내는 2-amino-adipic semialdehyde가 용량-시간 의존적으로 증가하였으며(Young *et al.*, 1999) morin과 같은 일부 flavonoid들은 항산화작용과 함께 pro-oxidant 로서도 작용하여 이들의 양면적 성질은 항산화작용에 의한 암예방작용을 나타내는 한편 경우에 따라서는 pro-oxidant 작용에 의한 변이원성이나 발암성에 관련될 수도 있다(Ohshima *et al.*, 1998).

Quercetin 및 그 배당체들은 프리라디칼 소거작용을 나타내었으며, H₂O₂ 유도 DNA 손상에 대해서도 억제적으로 작용하여 protective effect를 나타내었다. 또한 DNA breaking agent인 bleomycin 유도 소핵생성에도 매우 높은 억제활성을 나타내고 있다. Quercetin 및 그 배당체들은 항산화작용과 hydroxyl radical 과 superoxide anion 등을 소거함으로써 산화적 스트레스에 대한 보호작용을 하고 있다(Chance *et al.*, 1979). 따라서, ROS에 의한 oxidative DNA damage는 암과 노화와 관련이 깊다. 이들은 point mutation이나 deletion을 포함하는 돌연변이를 nuclear DNA에서 일으키며 mitochondrial DNA에서의 oxidative damage는 노화세포에서의 에너지 결핍을 일으켜 나이에 따라 돌연변이의 축적이 일어난다. 따라서 DNA 수복의 결핍은 세포사를 일으키고 이것은 인접세포들에 있어서 발암물질로의 촉진적 자극을 일으키게 한다(Ames, 1983).

산화적 DNA 손상을 통하여 발암의 전 단계에서 일어나는 돌연변이나 염색체 손상(chromosome aberration) 등의 유전 독성에 대한 억제물질들은 암의 initiation, promotion 및 progression 단계에서 항산화반응을 통한 세포내 대사의 modulation, DNA 반응성 물질들의 blocking, DNA replication 이나 DNA repair modulation 작용과 같은 기전으로 돌연변이나 염색체 손상 및 암을 예방할 수 있는 것으로 기대되고 있다(Flora *et al.*, 1992). 따라서 Quercetin 및 그 배당체들은 산소 프리라디칼들에 의한 산화적 손상에 억제적으로 작용하는 기전을 활용하여 항산화성 스트레스를 통한 항 노화, 암 예방

제로서의 응용가능성이 높은 물질로 판단되었다. 그러나 quercetin은 프리라디칼소거능, 항산화작용등과 함께 pro-oxidant 효과를 가지고 있으므로 이러한 flavonoid들을 *in vitro* lipid계에서 얻은 결과만을 바탕으로 단순히 항산화제로 분류 활용하는 것은 문제가 있으며 *in vivo* 시험계에서의 pro-oxidant 효과도 주의깊게 관찰하여야 할 것으로 보인다.

감사의 글

이 논문은 1997년 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음

참고문헌

- Ames, B.N. (1983): Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radical and degenerative diseases, *Science*, **221**, 1236-1246.
- Brown, J.P. (1980): A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds, *Mutation Res.*, **75**, 243-277.
- Chance, B. Siers, H. and Boveris, A. (1979): Hydroperoxide metabolism in mammalian organs, *Phys. Rev.*, **59**, 527-605.
- Flora, S., Bronzetii, G. and Sovels, F.H. (1992): Assessment of antimutagenicity and anticarcinogenicity, *Mutation Res.*, **267**, 153-155.
- Fugita, Y., Uera, I., Morimoto, Y., Nakajima, M., Hatano, C. and Okuda, T. (1988): Studies on inhibition mechanism of auto-oxidation by tannins and flavonoids, *Yakugaku Zasshi*, **108**, 129-135.
- Hayashi, M., Morita, T., Kodama, Y., Sofuni, T. and Ishidate, Jr., M. (1990): The micronucleus assay with peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides, *Mutation Res.*, **278**, 209-213.
- Heo, M.Y., Yu, K.S., Kim, K.H., Kim, H.P. and Au, W.W. (1992): Anticlastogenic effect of flavonoid against mutagen-induced micronuclei in mice, *Mutation Res.*, **284**, 243-249.
- Heo, M.Y., Lee, H.J., Sohn, S.J. and Au, W.W. (1996): Anticlastogenic effect of galangin against mitomycin C-induced micronucleated reticulocytes in mouse peripheral blood, *Mutation Res.*, **360**, 37-41.
- Hollman, P.C., van Trijp, J.M., Mengelers, M.J., de Vries, J. H., and Katan, M.B. (1997): Bioavailability of the dietary antioxidant flavonol quercetin in man, *Cancer Lett.*, **114**, 139-140.
- Kitta, K., Hagiwara, Y. and Shibamoto, T. (1992): Antioxidative activity of an isoflavonoid, 2'-o-glycosylisovitexin isolated from green barley leaves, *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1843-1849.
- Kuhnau, J. (1976): The flavonoids. A class of semi-essential food component : Their role in human nutrition, *Wld. Rev. Nutr. Diet*, **24**, 117-191.

- Lahiri-Chatterjee, M., Katiyar, S.K., Mohan, R.R., and Agarwal, R. (1999): A flavonoid antioxidant, silymarin, affords exceptionally high protection against tumor promotion in the SENCA mouse skin tumorigenesis model, *Cancer Res.*, **59**, 622-632.
- Martin, M.J., La-Casa, C., Alarcon-de-la-Lastra, C., Cabeza, J., Villegas, I., and Motilva, V. (1998): Antioxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin, *Z. Naturforsch.*, **53**, 82-88.
- Ogawa, S., Hirayama, T., Nohara, M., Tokada, M., Huai, K. and Fukui, S. (1985): The effects of quercetin on the mutagenicity of 2-acetylaminofluorene and benzo(a)pyrene in *Salmonella typhimurium*, *Mutation Res.*, **142**, 103-107.
- Ohshima, H., Yoshie, Y., Auriol, S., and Gilibert, I. (1998): Antioxidant and pro-oxidant actions of flavonoids : effects on DNA damage induced by nitric oxide, peroxy nitrite and nitroxyl anion, *Free Radic. Biol. Med.*, **25**, 1057-1065.
- Ohnaka, H., Ohishi, N. and Yaki, K. (1979): Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.*, **95**, 351-358.
- Okezie I.K., Antonia M., John B. and Barry H. (1993): Evaluation of the antioxidant and pro-oxidant actions of gallic acid and its derivatives, *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1880-1885.
- Pamuku, A.M., Yalciner, S. Hatcher, J.F. and Bryan, G.T. (1980): Quercetin, a rat intestinal and bladder carcinogen present in bracken fern(*Pteridium aquilinum*), *Cancer Res.*, **40**, 3468-3472.
- Pierpoint, W.S. (1986): Flavonoids in the human diet. in *Plant flavonoids in biology and medicine* (Cody, V., Middleton, E. and Harborne, J.B. eds.), A.R. Liss, New York, pp. 125-140.
- Sestili, P., Guidarelli, A., Dacha, M., and Cantoni, O. (1998): Quercetin prevents DNA single strand breakage and cytotoxicity caused by tert-butylhydroperoxide : free radical scavenging versus iron chelating mechanism, *Free Radic. Biol. Med.*, **25**, 196-200.
- Shah, G.M. and Bhattacharya, R.K. (1986): Modulation by plant flavonoids and related phenolic of microsome catalyzed adduct formation between benzo(a)pyrene and DNA, *Chem. Biol. Interact.*, **59**, 1-15.
- Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., and Schneider, E.L. (1988): A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells, *Experimental Cell Research*, **175**, 184-191.
- Young, J.F., Nielson, S.E., Haraldsdottir, J., Daneshvar, B., Lauridsen, S.T., Knuthsen, P., Crozier, A., Sandstrom, B., and Dragsted, L.O. (1999): Effect of fruit juice intake on the urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status, *Am. J. Clin. Nutr.*, **69**, 87-94.
- Zeng, L.H., Rootman, D.S., Burnstein, A., Wu, J., and Wu, T.W.: Morin hydrate (1998): a better protector than purpurogallin of corneal endothelial cell damage induced by xanthine oxidase and SIN-1, *Curr. Eye Res.*, **17**, 149-152.
- 김정환, 허문영(1996): Quercetin 및 quercetin배당체들의 유전독성억제효과, *식품위생안전성학회지* **11**, 115-121.
- 김정환, 허문영(1998): 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체들의 벤조피렌에 대한 유전독성억제효과, *약학회지*, **42**, 414-421.