



## Chrysin의 유전독성에 관한 연구

지승완 · 김창환 · 박미선 · 엄미옥 · 염태경 · 김옥희 · 강호일

식품의약품안전청 국립독성연구원

## Genotoxicity Studies of Chrysin

Seungwan Jee, Changhwan Kim, Misun Park, Miok Eom, Taikyung Ryeom, Okhee Kim and Hoil Kang

National Institute of Toxicological Research, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

Received January 26, 2005; Accepted March 8, 2005

**ABSTRACT.** Chrysin (5,7-dihydroxyflavone) is a flavonoid compound contained in many fruits, vegetables and honey. In our experiment, we investigated genotoxicity of chrysin using bacterial reverse mutation assay, chromosomal aberration test, *in vivo* micronucleus test. In bacterial reverse mutation assay, chrysin did not induce mutagenicity in *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102 with and without metabolic activation. In chromosome aberration test, chrysin did not also induce structural and numerical aberrations regardless of metabolic activation in Chinese hamster lung fibroblast cells. In mouse micronucleus test, no significant increase in the occurrence of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE) was observed in ICR male mice orally administered with chrysin at the dose of 0.5, 1.0, 2.0 g/kg body weight. Taken together these results, chrysin has no mutagenic potential in our experiment.

**Keywords:** Genotoxicity, Chrysin

### 서 론

최근 소득의 증가와 건강에 대한 사람들의 관심이 증가함에 따라 건강과 관련된 식품의 수요가 증가하고 있는 추세이다. 이들 식품 중에는 많은 화학물질이 함유되어 있고, 그 중에서도 에스트로겐성 효과를 나타내는 물질인 식물성 에스트로겐이 다양하게 함유되어 있다. 이러한 식물성 에스트로겐성 물질 중 chrysin(5,7-dihydroxyflavone)은 식물에 광범위하게 분포되어 있으며, 플라보노이드의 일종으로 꿀벌이 자기방어, 벌집의 보수 등의 목적으로 나무의 수액, 꽃의 암·수술에서 모은 화분을 이용하여 만든 밀랍(propolis)에서도 존재하고, 열매 및 야채에서도 존재하는 것으로 알려져 있다(Hertog *et al.*, 1992; Siess *et al.*, 1996). 또한 chrysin은 사람 gastric adenocarcinoma(MK-1), 사람 uterus carcinoma(HeLa), murine melanoma(B16F10) 세포에 대해 항증식 활성을 나타내

며, murine fibroblast L-929 세포에서는 tumor necrosis factor-alpha(TNF)의 세포독성을 증가시킨다는 보고가 있다(Habtemariam *et al.*, 1997; Nagao *et al.*, 2002). 동물실험에서 chrysin은 노화에 대해 생리·생화학적인 효과가 있는 것으로 알려져 있고, 심장 비대 및 혈관의 기능적인 변화에 의해 증가되는 고혈압을 감소시킨다는 보고가 있으며, 항산화, 항암, 항염증, 항에스트로겐 항알레르기 등 다양한 생물학적 활성이 있는 것으로 알려져 있다(Hecker *et al.*, 1996; Fishkin *et al.*, 1997; Lapidot *et al.*, 2002; Villar *et al.*, 2002; Cipak *et al.*, 2003). 이러한 식물성 에스트로겐은 식품, 음료, 건강보조식품 등 여러 분야에서 사용이 증가하는 추세이지만, 현재 chrysin에 대한 유전독성 여부가 확실히 규명되어 있지 않아 국민보건 확보차원에서 chrysin에 대한 체계적인 유전독성 시험이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 chrysin에 대한 유전독성 여부를 평가하기 위하여, *Salmonella typhimurium* 균주를 이용한 복귀돌연변이시험, Chinese hamster lung fibroblast를 이용한 염색체이상시험 및 마우스의 골수세포를 이용한 소핵시험을 실시하였다.

Correspondence to: Hoil Kang, National Institute of Toxicological Research, Korea Food and Drug Administration, 5 Nok-bun-dong, Eunpyung-gu, Seoul, Korea, 122-704  
E-mail: kanghi@kfda.go.kr

## 재료 및 방법

### 시료 및 시약

Chrysin, sodium azide, mitomycin C, 9-aminoacridine, 2-aminoanthracene, 2-nitrofluorene은 Sigma Chemical 회사(St. Louis, MO, USA), S9 fraction은 Lyophilized aroclor 124-induced male SD rat liver(Moltox, Molecular Toxicology, USA)를 사용하였다. 그 외의 모든 시약은 특급을 사용하였다.

### *Salmonella typhimurium* 균주를 이용한 복귀돌연변이 시험

**시험용 균주.** 시험에 사용한 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 균주는 Xenometrix 회사(USA)로부터 직접 구입하여 계대배양한 후, -80°C에 보관하여 사용하였다. 각 균주는 histidine 요구성, crystal violet 감수성, UV 감수성, ampicillin 내성, 자발복귀돌연변이 빈도 등의 유전적인 특성을 확인한 후 시험에 사용하였다.

**시험물질 및 대조물질.** Chrysin의 최고용량을 5,000 µg/plate로 하여, 각 균주에 대한 세포독성을 조사한 결과, 5,000 µg/plate의 농도에서 시험물질에 의한 세포독성은 나타나지 않았으나, 시험물질이 고농도에서는 시험계에서 석출되어, 본 시험에서의 최고 농도는 1,250 µg/plate를 최고용량으로 일정한 공비 2로 희석하여 5단계의 농도로 설정하였다. 양성대조 물질 중 SAZ(sodium azide), MMC(mitomycin C)는 3차 증류수에, 9-AA(9-aminoacridine), 2-NF(2-nitrofluorene), 2-AA(2-aminoanthracene)는 DMSO에 용해하여 사용하였다.

**복귀돌연변이시험.** 시험관(13×100 mm, glass)에 *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102 각각의 배양균액 0.1 ml, 시험물질 0.1 ml 및 0.2 M phosphate buffer saline(pH 7.4) 0.5 ml(대사활성법에서는 S9 mix 0.5 ml)를 넣어 혼합한 후 37°C에서 30분간 전 배양(pre-incubation)하였다. 배양종료 후 top agar 2 ml을 첨가하여 혼합하고 변이원성 검색용 배지 minimal glucose agar plate에 중층한 다음, 37°C에서 48시간 배양 후 복귀돌연변이 집락의 수를 계수 하였다. 음성대조군으로는 DMSO를 사용하였고, 복귀돌연변이 집락의 수는 3배의 평판의 평균치를 나타내었다. 돌연변이 유발성의 판정은 대사활성제 존재 유·무에 관계없이, 최소 1개 균주에서 평판 당 음성대조군과 비교하여 복귀돌연변이 집락수가 재현성 있는 증가를 나타내고 그 수가 음성대조군에 비하여 2배 이상이거나 통계학적인 유의성을 나타낼 때 양성으로 판정하였다. 이때 음성대조군과 각 용량군

사이의 유의성은 two-tailed *t*-test( $p < 0.05$ )를 이용하여 검정하였다.

### 염색체 이상시험

**세포주 배양.** 시험에 사용된 CHL(Chinese hamster lung)세포는 ATCC회사(Manassas, VA, USA)로부터 구입하여 사용하였다. CHL세포는 10% FBS(fetal bovine serum), 100 µg/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 1 mM sodium pyruvate, 및 1.5 g/l sodium bicarbonate를 첨가한 MEM(minimum essential medium) 배양액에서 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 배양기에서 배양하였다.

**시험물질 및 대조물질.** Chrysin을 DMSO에 60 µg/ml 농도로 용해하여 제조한 후 공비 2로 5단계의 농도로 희석하여 사용하였으며, 배양액에 첨가되는 시험물질은 최종농도 0.5%가 되도록 하였다. 세포증식억제 농도(IC<sub>50</sub>)는 CHL 세포를 96 well plate에 well당 14×10<sup>4</sup>개의 세포를 심고 24시간 후, 60 µg/ml의 농도로부터 공비 2로 5단계의 농도를 설정하여 MTT assay를 수행하였다. 시험물질의 최종농도는 30 µg/ml에서 50%의 세포독성을 보여, 이를 최고농도로 공비 2의 3단계 농도로 시험물질 처리군 및 양성대조군, 용매대조군으로 시험군을 구성하여 용량마다 2개의 60 mm의 tissue culture dish를 사용하였다. 비대사활성제의 양성대조물질인 MMC(mitomycin C)는 최종농도 0.1 µg/ml, 대사활성법에 사용되는 B(a)P(benzo(a)pyrene)는 최종농도 20 µg/ml가 되도록 DMSO에 녹여 사용하였다.

**염색체이상시험.** 대사활성 부재 및 존재로 나누어 배양세포를 60 mm의 tissue culture dish 당 1×10<sup>5</sup> cells/ml이 되도록 파종하여 1일간 배양한 후, 시험물질과 양성대조물질 등을 함유하는 배양액으로 교환하여 6시간 동안 배양하였다. 배양 후 새로운 배지로 교환하여 16시간 배양하고 colcemid를 0.2 µg/ml이 되도록 처리하여 2시간이 경과한 후 표본을 제작하였다. 0.25% trypsin-EDTA로 세포를 모아 원심분리한 후 37°C의 저장액(0.075 M KCl) 4 ml에 현탁 시키고 37°C 수조에 20분간 방치한 다음 고정액(methanol : acetic acid=3 : 1 v/v)으로 3회 고정시킨 후 공기 건조법으로 슬라이드를 제작하여 5% Giemsa로 30분간 염색하여 현미경으로 관찰하였다.

결과의 판정은 하나의 시험농도 당 100개의 세포분열 중기상을 현미경하에서 판독하여 염색체이상 유무를 관찰하였다. 염색체이상은 크게 구조이상(structural aberrations)과 수적이상(numerical aberration)으로 분류하고, 구조이상은 ctg(chromatid gap), ctb(chromatid break), cte(chromatid exchange), csg(chromosome gap), csb

(chromosome break), cse(chromosome exchange)로 구분하여 기록하였다. 구조이상의 종류를 1개 이상 갖는 세포를 양성세포 1개로 계수하고 그 종류를 각각 기록하였다. 이때 음성대조군과 각 투여군간의 통계적 용량군 사이의 유의성은 Dunnett's test( $p < 0.05$ )를 이용하여 검정하였다.

#### 마우스 골수 세포를 이용한 소핵시험

**실험동물.** 동물은 국립독성연구원 실험동물자원실로부터 식품의약품안전청 청정구역에서 생산된 수컷 5주령 ICR 마우스를 공급받아 온도  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 상대습도  $55 \pm 5\%$ , 배기 10~18회/hr, 조명 12시간, 조도 150~300 lux의 사육환경에서 polycarbonate 사육상자(70 W×240 L×120 H mm)에 5마리씩 넣어 사육하였다. 고품사료와 음료는 자유롭게 섭취시켰으며, 1주일간의 순화시킨 후 시험에 사용하였다.

**시험물질 및 대조물질.** Chrysin은 2 g/kg 경구투여한 후 24시간 경과 시, 시험동물은 외형적 이상이 나타나지 않았고 사망하지 않아 최고용량을 2 g/kg으로 설정하였으며, 물에 대한 용해도가 낮아 corn oil에 마우스 체중 kg 당 10 ml의 부피가 되도록 현탁하여 사용하였다. 양성대조물질은 MMC를 3차 증류수에 녹여 마우스 2.5 mg/kg의 용량으로 사용하였다.

**소핵시험.** 시험은 최고농도를 포함하여 일정한 공비 2로 3단계의 시험물질투여군 및 음성대조군과 양성대조군을 군당 5마리로 시험하였다. 음성대조군에는 corn oil을 경구투여 하였으며, 시험물질 투여군인 chrysin은 2 g/kg을 최고농도로 하여 공비 2의 3개 농도로 수행하였다. 음성대조군과 시험물질 투여군은 1일 1회 경구투여한 후 24시간 경과 후에 검체를 제작하였으며, 양성대조군은 복강 내로 단회 투여 후 24시간 경과 후 검체를 제작하였다. 경추탈구로 도살한 동물의 양쪽대퇴골 내부를 FBS로 씻어 골수세포 현탁액을 수확하여 1000 rpm에서 5분간 원심 분리하였다. 상청액을 제거한 후 세포를 FBS에 현탁시켜 현탁액을 슬라이드글라스에 도말하여 실온에서 건조한 후 5분간 메탄올에서 고정하였다. 표본은 5% Giemsa 용액에서 30분간 염색 한 후 phosphate buffer에서 1회 세척하였다. 슬라이드 글라스는 0.004%의 구연산수용액에 수 초간 담근 후 증류수에 수회 세척하고 공기 중에서 건조시켜 슬라이드글라스를 제조하였다. 소핵관찰은 광학현미경 하에서 2명의 관찰자에 의해 맹검법으로 제조된 슬라이드글라스를 검경하였다. 마우스 1마리당 1,000개의 적혈구에서 다염성 적혈구(polychromatic erythrocyte, PCE)와 정염성 적혈구(normochromatic erythrocyte, NCE)의 비를 구하고, 다시 1,000개의 PCE 중에서 소핵

을 가진 다염성 적혈구(micronucleated PCE, MNPCE)의 출현빈도를 구하였다. 실험결과의 통계학적 처리는 unpaired Student's *t*-test( $p < 0.05$ )를 사용하여 유의성을 결정하였다.

## 결과 및 고찰

본 연구에서는 식물성 에스트로겐의 일종인 chrysin에 대해 3가지 유전독성시험(복귀돌연변이시험, 염색체이상시험, 소핵시험)을 실시하여 유전독성을 평가하였다.

#### Salmonella typhimurium 균주를 이용한 복귀돌연변이 시험

*S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102 등 5종의 시험균주에서 양성대조 화합물들은 비대사활성법과 S9 mix를 첨가한 대사활성화법 모두에서 각각의 시험용 균주에 대하여 통계적으로 유의하게 복귀돌연변이 집락수를 증가시켜 본 실험이 적정히 이루어졌음을 알 수 있었다. 시험물질인 chrysin은 S9 mix를 적용하지 않은 비대사활성법의 경우, 모든 용량 단계에 걸쳐 전체 시험용 균주에서 음성대조와 같은 정도 또는 그 이하의 복귀돌연변이 집락수를 나타내었다. S9 mix를 이용한 대사활성화법의 경우에도 S9 mix를 적용하지 않은 비대사활성법과 마찬가지로 통계적으로 유의한 복귀돌연변이 집락수를 증가시키지 않았다. 일부 균주(TA98, TA1537)에서 고농도의 시험물질 처리 시 음성대조군에 비하여 다소 집락수가 감소된 경우도 있었으나, 예비독성 시험에서 5000 ug/plate 이상의 농도에서 세포독성을 나타내지 않았음을 고려해 볼 때 세포독성은 아니라고 생각된다(Table 1). 본 실험결과는 최근 Uhl 등이 chrysin의 anti-mutagenic 효과를 조사하기 위해 *S. typhimurium* TA98, TA100에 대하여 실험한 결과와 일치하며, 이상의 결과로 보아 본 시험조건에 있어서 chrysin은 돌연변이 유발성을 나타내지 않는 것으로 판단된다.

#### 염색체이상시험

염색체이상시험은 현재 유전독성 물질을 검색하기 위한 수단으로서 보편적으로 채택되는 시험법 중의 하나이다(Gauthier *et al.*, 1999). 본 연구에서는 chrysin의 유전독성을 평가하기 위하여 CHL 세포를 대상으로 염색체이상 시험을 실시하였다. 먼저 염색체이상시험에서의 투여량 결정을 위하여 세포독성시험을 시행한 결과 chrysin은 30 µg/ml에서 50%의 세포독성을 보여 이를 최고농도로 공비 2의 3단계 농도로 염색체이상 시험을 실시하였다.

**Table 1.** Reverse mutation in *Salmonella typhimurium* by chrysin

Compound	Dose ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix	No. of revertant colonies per plate (mean $\pm$ SD)				
			TA98	TA100	TA102	TA1535	TA1537
DMSO		-	38.3 $\pm$ 5.1	92.0 $\pm$ 15.5	225.7 $\pm$ 23.0	14.0 $\pm$ 2.0	15.3 $\pm$ 8.1
Chrysin	1250	-	31.7 $\pm$ 2.5	121.3 $\pm$ 5.5	231.3 $\pm$ 15.3	10.7 $\pm$ 1.5	7.3 $\pm$ 0.6
"	625	-	33.0 $\pm$ 7.8	112.7 $\pm$ 10.6	230.3 $\pm$ 26.0	9.0 $\pm$ 2.1	9.0 $\pm$ 3.6
"	313	-	37.3 $\pm$ 4.2	103.0 $\pm$ 20.8	225.0 $\pm$ 9.2	11.0 $\pm$ 2.6	11.7 $\pm$ 4.0
"	156	-	42.0 $\pm$ 3.5	104.0 $\pm$ 11.3	221.0 $\pm$ 43.5	12.3 $\pm$ 5.9	14.7 $\pm$ 4.7
"	78	-	45.3 $\pm$ 6.7	136.7 $\pm$ 22.5	215.0 $\pm$ 21.7	10.7 $\pm$ 2.1	10.0 $\pm$ 2.6
2-NF	5	-	830.3 $\pm$ 28.1**	NT	NT	NT	NT
SAZ	5	-	NT	543.3 $\pm$ 38.6*	NT	1055.3 $\pm$ 16.0**	NT
MMC	0.5	-	NT	NT	1108.0 $\pm$ 48.5**	NT	NT
9AA	50	-	NT	NT	NT	NT	218.0 $\pm$ 42.6*
DMSO		+	48.3 $\pm$ 7.4	118.0 $\pm$ 20.0	261.3 $\pm$ 4.0	8.7 $\pm$ 2.1	16.3 $\pm$ 3.2
Chrysin	1250	+	26.0 $\pm$ 10.8	129.0 $\pm$ 10.5	239.3 $\pm$ 1.5	6.0 $\pm$ 4.4	15.7 $\pm$ 3.2
"	625	+	41.7 $\pm$ 7.1	162.3 $\pm$ 28.0	257.3 $\pm$ 22.1	8.7 $\pm$ 2.5	19.3 $\pm$ 3.2
"	313	+	39.7 $\pm$ 9.1	120.3 $\pm$ 10.1	234.3 $\pm$ 13.3	9.0 $\pm$ 1.7	14.3 $\pm$ 2.5
"	156	+	43.7 $\pm$ 8.5	157.7 $\pm$ 11.4	263.0 $\pm$ 14.1	10.7 $\pm$ 7.1	15.7 $\pm$ 5.0
"	78	+	47.3 $\pm$ 6.8	154.7 $\pm$ 13.3	247.0 $\pm$ 18.5	10.7 $\pm$ 1.5	18.3 $\pm$ 1.5
2-AA	2.5	+	251.3 $\pm$ 23.5**	479.3 $\pm$ 34.8**	NT	NT	NT
2-AA	5	+	NT	NT	780.7 $\pm$ 68.1**	79.0 $\pm$ 10.4*	311.7 $\pm$ 66.5*

Each value represents means  $\pm$  SD (n=3); DMSO; Dimethyl sulfoxide, 2-AA; 2-aminoanthracene, SAZ; sodium azide, 2-NF; 2-nitrofluorene, MMC; mitomycin, 9-AA; 9-amionacridine, NT; not tested. Significantly different from the control \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

**Table 2.** Chromosome aberration test of chrysin in Chinese hamster lung cells

Compound <sup>a</sup>	Dose $\mu\text{g}/\text{ml}$	S9 mix	No. of aberration <sup>b</sup>							No. of normal cells
			ctg	ctb	cte	csg	csb	cse	num	
DMSO		-	1.0 $\pm$ 1.0	0.7 $\pm$ 0.6	1.3 $\pm$ 1.2	0.7 $\pm$ 1.2	0.3 $\pm$ 0.6	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	95.7 $\pm$ 0.6
MMC		-	9.0 $\pm$ 1.0*	8.3 $\pm$ 1.5*	7.0 $\pm$ 3.6	4.3 $\pm$ 2.5	4.3 $\pm$ 1.5*	3.7 $\pm$ 0.6*	0.0 $\pm$ 0.0	67.7 $\pm$ 4.5*
Chrysin	7.5	-	2.0 $\pm$ 1.0	2.7 $\pm$ 2.1	0.3 $\pm$ 0.6	1.3 $\pm$ 1.5	0.7 $\pm$ 1.2	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	93.0 $\pm$ 3.5
"	15	-	3.0 $\pm$ 1.0	1.3 $\pm$ 1.5	0.7 $\pm$ 1.2	0.7 $\pm$ 0.6	0.3 $\pm$ 0.6	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	94.3 $\pm$ 1.5
"	30	-	2.7 $\pm$ 1.5	1.7 $\pm$ 1.2	0.7 $\pm$ 0.6	2.0 $\pm$ 1.0	0.7 $\pm$ 1.2	0.7 $\pm$ 0.6	0.0 $\pm$ 0.0	90.5 $\pm$ 0.7
DMSO		+	0.5 $\pm$ 0.7	0.5 $\pm$ 0.7	0.5 $\pm$ 0.7	1.5 $\pm$ 2.1	0.5 $\pm$ 0.7	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	96.5 $\pm$ 0.7
B(a)P		+	6.3 $\pm$ 1.5*	5.7 $\pm$ 1.2*	5.0 $\pm$ 1.0*	1.3 $\pm$ 0.6	1.7 $\pm$ 0.6	0.3 $\pm$ 0.6	0.3 $\pm$ 0.6	81.7 $\pm$ 2.5*
Chrysin	7.5	+	1.3 $\pm$ 1.5	1.7 $\pm$ 2.1	0.7 $\pm$ 1.2	1.7 $\pm$ 1.5	0.3 $\pm$ 0.6	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	94.3 $\pm$ 1.5
"	15	+	3.0 $\pm$ 2.0	1.3 $\pm$ 0.6	0.3 $\pm$ 0.6	2.0 $\pm$ 0.0	2.0 $\pm$ 2.6	0.0 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.6	91.3 $\pm$ 4.0
"	30	+	2.0 $\pm$ 1.0	2.3 $\pm$ 0.6	1.7 $\pm$ 1.5	1.7 $\pm$ 0.6	0.0 $\pm$ 0.0	0.3 $\pm$ 0.6	1.0 $\pm$ 1.0	93.3 $\pm$ 0.6

\*Significantly different from the control ( $P < 0.05$ ).

<sup>a</sup>MMC, mitomycin C; B(a)P, benzo(a)pyrene.

<sup>b</sup>ctg, chromatid gap; ctb, chromatid break; cte, chromatid exchange; csg, chromosome gap; csb, chromosome break; cse, chromosome exchange; num, numerical aberration.

그 결과, 대사활성법과 비대사활성법에서 양성대조물질인 benzo[a]pyrene과 mitomycin C의 경우 이상염색체를 지닌 세포의 출현빈도가 각각 18%와 32%로 음성대조군과 비교하였을 때 유의적 증가를 나타내었으나, chrysin 처리군에서는 대사활성의 유·무에 관계없이 염색체 구조적 이상 및 수적이상이 모두 10% 이내로 음성대조군과 비교하였을 때 유의한 증가를 나타내지 않았으며, 시험물질의 농도 증가에 따른 용량 의존적 증가 역시 보이지 않았다(Table 2). 따라서, chrysin은 CHL 세포에서 염색체 이상을 유발하지 않는 것으로 사료된다.

#### 마우스 골수 세포를 이용한 소핵시험

마우스를 이용한 소핵시험에서 시험 전체 기간 중 chrysin을 2 g/kg까지 투여한 모든 동물에서 본 시험 물질에 의한 것이라고 인정되는 임상증상, 행동이상, 사망 등은 관찰되지 않았으며, 소핵빈도에 관한 결과를 Table 3에 제시하였다. 1000개의 다염기성적혈구(PCE)에 대한 소핵다염기성적혈구(MNPCE)의 출현빈도를 구한 결과 양성대조물질인 mitomycin C 투여군에서는 MNPCE가 유의적으로 증가( $p < 0.05$ )하였고, PCE의 비율이 유의성 있는 감소( $p < 0.05$ )를 보였으나, 모든 시험군에서 음성대조군에

**Table 3.** Micronucleus test of chrysin in mice

Treatment <sup>a</sup> (g/kg)	Sex	N <sup>b</sup>	24-h sacrifice		
			MNPCE <sup>c</sup>	PCE:NCE <sup>d</sup>	PCE/(PCE+NCE)
Negative control (10 ml/kg corn oil)	M	5	0.02 ± 0.01	0.57 ± 0.1	0.36 ± 0.04
Positive control (2.5 mg/kg MMC)	M	5	0.65 ± 0.07*	0.49 ± 0.07	0.3 ± 0.03*
2	M	5	0.02 ± 0.01	0.58 ± 0.17	0.39 ± 0.06
1	M	5	0.01 ± 0.01	0.58 ± 0.09	0.38 ± 0.03
0.5	M	5	0.01 ± 0.01	0.56 ± 0.08	0.38 ± 0.03

<sup>a</sup>Based on active ingredient content.

<sup>b</sup>Number of mice; 1000 PCE were examined from each animal.

<sup>c</sup>Percent of micronucleated cells based on the total polychromatic cells present in the scored optic field.

<sup>d</sup>Ratio of polychromatic PCE to normochromatic NCE cells, based upon the number of NCE in the optical fields containing 1000 PCE.

Each value represents mean ± S.D.

\*Significantly different from the control ( $p < 0.05$ ).

비해 유의한 증가 및 시험물질의 용량의존적인 증가는 관찰되지 않았다. 또한 음성대조군과 비교하여 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았으며, 다염성적혈구(PCE)에 대한 정염성적혈구의 출현비를 구한 결과 정염성적혈구(NCE)의 증가 및 다염성적혈구(PCE)의 감소가 관찰되지 않아 골수 세포의 증식억제효과가 없는 것으로 사료된다. 따라서 chrysin은 ICR 마우스를 이용한 소핵시험에서 유전독성을 평가한 결과 소핵유발이 없는 것으로 사료된다.

## 결 론

Chrysin은 많은 종류의 야채, 과일, 벌꿀 등에 함유되어 있는 플라보노이드 화합물이다. 본 연구에서는 박테리아 복귀돌연변이시험, 염색체 이상시험, 소핵시험으로 chrysin의 유전독성 여부를 조사하였다. Chrysin은 *Salmonella typhimurium*(TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102)를 이용한 박테리아 복귀돌연변이 시험에서 대사활성화 여부에 관계없이 통계적으로 유의한 돌연변이 유발성을 나타내지 않았으며, CHL 세포를 이용한 염색체이상 시험에서도 대사활성화 여부에 관계없이 염색체의 구조 이상 및 수적이상을 나타내지 않았다. 또한 chrysin을 체중 당 0.5, 1.0, 2.0 g/kg의 용량으로 ICR 마우스에 경구 투여한 경우에서도 소핵다염성적혈구가 증가하지 않아 유전독성이 없는 것으로 사료된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 2003년도 식품의약품안전청의 국가독성물질 관리사업 연구비로 수행되었음.

## 참고문헌

- Novotny, L. (2003): Effects of flavonoids on cisplatin-induced apoptosis of HL-60 and L1210 leukemia cells. *Leuk. Res.*, **27**, 65-72.
- Fishkin, R.J. and Winslow, J.T. (1997): Endotoxin-induced reduction of social investigation by mice: interaction with amphetamine and anti-inflammatory drugs. *Psychopharmacology*, **132**, 335-341.
- Gauthier, J.M., Dubeau, H., Rassart, E., Jarman, W.M. and Wells, R.S. (1999) : Biomarkers of DNA damage in marine mammals. *Mutat. Res.*, **444**, 427-433.
- Habtemariam, S. (1997): Flavonoids as inhibitors or enhancers of the cytotoxicity of tumor necrosis factor-alpha in L-929 tumor cells. *J. Nat. Prod.*, **60**, 775-778.
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Katan, M.B. (1992): Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 2379-2383.
- Koyama, H., Utakoji, T. and Ono, T. (1970): New cell line derived from newborn Chinese hamster lung tissue. *Gann.*, **61**, 161-167.
- Lapidot, T., Walker, M.D. and Kanner, J. (2002): Antioxidant and prooxidant effects of phenolics on pancreatic beta-cells *in vitro*. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 7220-7225.
- Nagao, T., Abe, F., Kinjo, J. and Okabe, H. (2002): Antiproliferative constituents in plants 10. Flavones from the leaves of *Lantana montevidensis* Briq. and consideration of structure-activity relationship. *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 875-879.
- Siess, M.H., Le Bon, A.M., Canivenc-Lavier, M.C., Amiot, M.J., Sabatier, S. and Aubert, S.Y. (1996): Flavonoids of honey and propolis: Characterization and effects on hepatic drug-metabolizing enzymes and benzo[a]pyrene-DNA binding in rats. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 2297-2301.
- Uhl, M., Ecker, S., Kassie, F., Lhoste, E., Chakraborty, A., Mohn, G. and Knasmuller, S. (2003): Effect of chrysin, a flavonoid compound, on the mutagenic activity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP) and benzo(a)pyrene (B(a)P) in bacterial and human hepatoma (HepG2) cells. *Arch. Toxicol.*, **77**, 477-484.
- Duarte, J. (2002): Effects of chronic chrysin treatment in spontaneously hypertensive rats. *Planta Med.*, **68**, 847-850.