

Quercetin 및 Quercetin 배당체들의 유전독성억제효과

김정한 · 허문영†

강원대학교 약학대학

Antigenotoxicity of Quercetin and its Glycosides

Jeong Han Kim and Moon Young Heo†

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

ABSTRACT— In order to compare the suppressive effect of quercetin and several its glycosides, such as quercitrin (quercetin-3-rhamnoside), isoquercitrin (quercetin-3-glucoside), hyperin (quercetin-3-galactoside) and rutin (quercetin-3-rhamnosyl glucoside), on the genotoxicity by N-methyl-N-nitrosourea(MNU), *in vitro* sister chromatid exchange(SCE) test using mouse spleen lymphocytes and *in vivo* micronucleus test using mouse peripheral blood were performed. MNU-induced SCEs *in vitro* were not decreased by the simultaneous treatment of test compounds. Among them, quercetin and hyperin showed significant suppressive effects at high dose(10^{-6} M). On the other hand, MNU-induced micronucleated reticulocytes(MNRETs) *in vivo* were significantly decreased with good dose-dependent manner in all compounds tested. However, there were not significant differences between quercetin aglycone and its glycosides in the suppressive effects under experimental condition of this study. These results suggest that both of quercetin aglycone and its glycosides may act as an antigenotoxic agent *in vivo* and may be useful as a chemopreventive agent of alkylating agent.

Key word □ Quercetin, Quercetin glycosides, Flavonoids, Antigenotoxicity, Sister chromatid exchange test, Micronucleus test, Cancer chemopreventive agent

Flavonoid들은 주로 배당체(glycoside)의 형태로 식물체에 널리 분포하며, 일상적으로 사람들이 1일 약 1g 정도 섭취하고 있는 화합물이다.¹⁾ 이들 중에서도 특히 quercetin은 1일 50~500 mg 정도 섭취하게 되는 주된 화합물이다. 그동안 여러 연구자들에 의하여 quercetin이 Ames 시험 및 기타 *in vitro* mammalian cell assay에서 변이원성이 확인되어 주목을 끌어들였다.^{2,7)} 식물체를 통하여 이렇게 다량으로 섭취되고 있는 quercetin이 변이원성물질(mutagen)이라면 이는 체내에서도 발암물질(carcinogen)이 될 수 있기 때문이다. 그러나 최근에 이러한 quercetin을 비롯한 flavonoid 화합물들의 *in vitro*에서의 변이원성은 Ames test나 기타 *in vitro* test system 자체에 문제가 있어서 나타난다는 것이 알려지기 시작했다.⁸⁾ Fe와 Cu 같은 산화환원성 금속이나 분자상 산소의 존재하에 quercetin은 자동산화(autooxidation)되어 hydrogen peroxide나 superoxide를 생산하여 이것이 변이원성을 나타내게 한다고 보고되었다.⁹⁾ 이같은 비슷한 조건하

에서 vitamin C도 변이원성을 나타내고 있다.¹⁰⁾

한편, *in vivo* 시험에서는 일부 연구자들의 보고를 제외하고 발암성을 나타내지 않았으며 오히려 antimutagenic, 또는 anticarcinogenic 활성을 나타낸다는 보고가 많다. 저자들도 그동안 여러 연구를 통해서 flavonoid 화합물 중 galangin을 비롯한 morin, fisetin, quercetin, flavonol 및 kaempferol 등 flavonoid 유도체들의 유전독성 억제효과가 비교적 컸음을 보고한 바 있다.¹¹⁻¹³⁾ 그러나, 지금까지 대부분의 연구결과는 flavonoid 비배당체(flavonoid aglycone)들에 관한 것으로서 실제로 식물체내에 대부분 존재하며 사람들에게 주로 섭취되는 형태인 flavonoid 배당체(flavonoid glycone)을 대상으로 한 실험은 rutin의 경우를 제외하고는 거의 없었다. 이는 특히 *in vivo* 시험시 다량으로 필요한 순도 높은 flavonoid 배당체들의 확보가 용이하지 않았기 때문이다.

이에 본 저자들은 flavonoid 화합물의 유전독성 억제효과를 보다 깊이있게 파악하려면 flavonoid의 aglycone과 glycone에 대한 비교연구가 필요하다고 생각되었다. 따라서 우선 대사활성화없이 작용하는 1차 발암물질(direct act-

† Author to whom correspondence should be addressed.

ing carcinogen)인 N-methyl-N-nitroso urea(MNU)에 대하여 실제로 식물체내에 가장 많이 분포하여 사람들에게 다량으로 섭취되고 있고, 이미 본인들이 수행한 연구에 의해 비교적 억제활성이 큰 quercetin을 대상으로 하여 인체에 섭취되는 대부분의 형태인 몇가지 quercetin glycosides들의 유전독성억제활성을 비교하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

Quercetin과 rutin은 Sigma사(St.Louis, USA)에서 구입하였으며 isoquercitrin은 Carl Roth GmbH+Co사(Karlsruhe 21, Germany)에서 공급받았다. 또한 quercitrin과 hyperin은 부산수산대학교 최재수교수로 부터 분양받았으며, 모든 flavonoid검체들은 TLC와 HPLC로 순품을 확인하고 사용하였다. Fig. 1에 실험대상 flavonoid들의 화학구조를 나타내었다. 한편, N-methyl-N-nitroso urea(MNU)는 Sigma사(St. Louis, USA)에서 구입하였다.

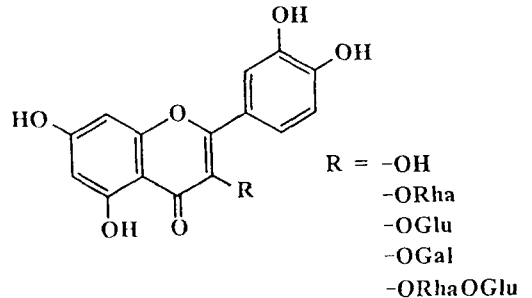
Animals

본 실험에서 사용되는 ICR과 C57BL/6 mice는 서울대학교에서 공급받아 강원대 약대 동물사육실내에 있는 양압의 무균동물챔버에서 23±1°C 및 상대습도 55±7%의 조건으로 7~10일 적응시킨 후 사용하였다. 사료는 삼양유지의 마우스용 pellet사료를 주었으며 물은 자유롭게 먹게하고, 12h/12h(L/D) cycle의 조건에서 실험하였다.

in vitro Sister Chromatid Exchange test¹⁴⁾

C57BL/6 마우스 (♂, 15~25 g)로부터 무균적으로 비장을 적출하여 일회용 50 ml 무균 실린지의 plunger를 이용하여 세포를 분리시킨 후 cell count하여 20×10⁶ cell/ml로 만들었다. 이 세포현탁액 0.5 ml씩을 배지에 가하여 실험하였다. Complete medium은 15% heat inactivated fetal bovine serum(Gibco No. 200-6140), 1% sodium heparin (1,000 unit, Invenex No. 33-1), 1% penicillin-streptomycin (Gibco No.600-5145), 2% concanavalin A(Con A, Sigma No. C-5275), 0.01% β-mercaptoethanol (0.05 M, Sigma No. M-6250)이 되도록 RPMI 1640 culture medium으로 조제하여 사용하였다.

배양은 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 이루어졌으며 배양후 6시간에 5-bromo-2'-deoxyuridine(Sigma No. B-5002)를 각 culture tube에 10 μM이 되도록 가했다. 배양후 24시간에 농도-반응관계 실험을 위해서는 양성대조물질로서 MNU를 0, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ M씩 각각 가했다. 유전독성억제실험을 위



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.

해서는 MNU(10⁻⁵ M) 단독, 또는 양성대조물질과 quercetin과 배당체들(0, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ M)을 각각 동시에 첨가한 후 배양개시후 45.5시간에 colcemid(final conc. 0.4 μg/ml)를 가해 분열중기세포를 포획하고 48시간에 배양을 끝내고 염색체 표본을 상법에 따라 만들었다. 이때 음성대조군은 MNU의 용매인 생리식염수와 quercetin과 배당체들의 용매인 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 사용하였다.

슬라이드들은 0.075 M KCl 용액으로 저장액처리를 하고 Carnoy's fixative로 고정한 후 원심분리하여 소량의 고정액에 현탁시킨 세포현탁액을 빙냉 정제수에 담가놓았던 슬라이드에 떨어뜨린후 건조한다. 건조한 슬라이드는 Hoechst 33258 (6.25 μg/ml)액으로 30분간 염색 후 MacIvain's buffer(0.25M Na₂HPO₄; 0.1 M citric acid=36:1)에 담가 57°C로 가열하고 black light를 30분간 폭로시킨후 10% Giemsa 용액으로 5분간 염색한다. 염색된 슬라이드들은 각 culture당 25개의 2차 metaphase를 관찰하여 SCE빈도를 산출하였으며 각 농도당 2회 실험을 실시하였다.

in vivo Micronucleus test¹⁵⁾

In vivo micronucleus시험을 ICR mice(♂, 25~30 g)를 사용하여 실시하였으며 실험군당 마우스는 5마리로 하였다. 대조물질로서는 MNU를 사용하였다. 마우스의 말초혈액중 reticulocyte를 이용하는 소핵실험을 실시하였다. 시험의 개요는 MNU를 투여하고 48시간 후 꼬리정맥에서 말초혈액

을 채취하여 이를 acridine orange가 coating 되어있는 슬라이드 상에 떨어뜨리고 커버슬라이드를 덮은 다음 형광현미경으로 망상적혈구(reticulocytes, RETs)중 소핵을 가진 망상적혈구(micronucleated reticulocytes, MNRETs)의 빈도를 관찰한다. 이때 마우스 한마리당 1000개의 RETs를 관찰하였다.

한편, 용량-반응관계 실험을 위하여 양성대조물질로서 MNU를 0, 20, 40, 60 mg/kg 각각 복강주사하여 시험하였다. 유전독성역제실험을 위해서는 양성대조물질인 MNU (40 mg/kg, i.p.) 단독, 또는 양성대조물질(MNU 40 mg/kg, i.p.)과 quercetin과 배당체들(0, 0.1, 1, 10, 100 mg/kg)을 각각 경구투여한 후 처음 투여 48시간 후 말초혈액을 채취하여 소핵시험을 실시하였다.

통계처리

실험을 통해 얻어지는 data들은 Student's t-test와 one-way analysis of variance(ANOVA) test를 사용하여 유의성 검정을 하였다.

결 과

MNU 유도 SCE와 MNRET 생성빈도

MNU에 의해 유도된 mouse spleen lymphocyte에서의 세포당 SCE생성빈도는 음성대조군(DMSO) 10.3 ± 0.2 였으며, 10^{-7} M에서 13.4 ± 0.2 , 10^{-6} M에서 15.7 ± 0.2 , 10^{-5} M에서 19.4 ± 0.1 이었으며 10^{-4} M에서는 mitosis가 일어나지않았다. 10^{-7} M- 10^{-5} M에서 양호한 농도-반응관계를 나타내어 10^{-5} M을 양성대조군으로 하여 자매염색분체교환 억제효과 실험을 실시하였다.

또한, MNU에 의해 유도된 마우스 말초혈액의 1,000 RET 당 소핵생성빈도는 음성대조군(DMSO) 0.8 ± 0.1 , 20 mg/kg에서 13.5 ± 0.9 , 40 mg/kg에서 29.0 ± 1.2 , 60 mg/kg에서 40.2 ± 1.3 으로서 양호한 용량-반응관계를 나타내어 40 mg/kg을 양성대조군으로하여 소핵생성 억제효과를 실시하였다.

MNU유도 SCE에 대한 quercetin 및 배당체들의 효과

in vitro mouse spleen lymphocyte에서 MNU유도 SCE에 대한 quercetin 및 배당체들의 효과를 Table 1에 나타내었다. 대부분의 quercetin 및 배당체들은 MNU유도 SCE에 대하여 약간의 억제경향을 나타내었으나 뚜렷하지는 않았다. 그러나 Student's t-test를 사용한 유의성검정에 의하면 quercetin이 10^{-5} M에서 10.0%($p < 0.01$), hyperin이 10^{-6} M에서 5.8%($p < 0.05$), 10^{-5} M에서 11.5%($p < 0.01$)으로서 억제효과를 나타내었으나 isoquercitrin은 모든 시험농도에서 유의성 있는 억제효과를 나타내지않았다. 한편, one-way ANOVA test에서 hyperin $p < 0.01$, quercetin이 $p < 0.05$ 의 유의성있는 용량의존적 억제경향을 나타내었다.

MNU유도 MNRET에 대한 quercetin 및 배당체들의 효과

마우스에서 MNU유도 MNRET에 대한 quercetin 및 배당체들의 효과를 Table 2에 나타내었다. 실험대상 quercetin 및 배당체들은 MNU유도 MNRET에 대하여 *in vitro* 실험이었던 mouse spleen lymphocyte SCE시험에서와는 달리 뚜렷한 억제경향을 나타내었다. Student's t-test를 사용한 유의성검정에 의하면 quercetin이 100 mg/kg에서 37.9%($p < 0.01$), quercitrin이 10 mg/kg에서 29.9%($p < 0.01$), 100 mg/kg에서

Table 1. The effect of quercetin and its glycosides against MNU-induced SCE in mouse spleen lymphocytes.

Concentration ^a	SCE/cell, Mean SE ^b					
	(M)	Quercetin ^c	Quercitrin ^c	Isoquercitrin	Hyperin ^d	Rutin
0		19.0 ± 0.1	18.0 ± 0.1	18.0 ± 0.1	19.0 ± 0.1	19.0 ± 0.1
10^{-7}		19.7 ± 0.3	$17.8 \pm 0.2^{**}$	19.2 ± 0.3	19.0 ± 0.1	18.8 ± 0.6
10^{-6}		19.2 ± 1.2	19.5 ± 0.1	19.1 ± 0.1	$17.9 \pm 0.7^*$	20.5 ± 1.2
10^{-5}		$17.1 \pm 0.1^{**}$	18.6 ± 0.4	19.2 ± 0.2	$16.8 \pm 0.3^{**}$	18.9 ± 0.7
p value (ANOVA)		0.033	0.042	0.733	0.009	0.215

^a MNU or MNU plus flavonoid was added to culture at 24 h after initiation of cultures. Cells were harvested at 48 h. Twenty five 2nd metaphases per culture and fifty 2nd metaphases per dose were analyzed.

^b Significantly different from the control group at * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ (Student's t-test)

^c Significant dose-dependent decrease ($p < 0.05$; one-way ANOVA).

^d Significant dose-dependent decrease ($p < 0.01$; one-way ANOVA).

Table 2. The effect of quercetin and its glycosides against MNU-induced MNRET in mouse peripheral blood

Dose ^a	MNRET/1,000RET, Mean ± SE ^b				
(mg/kg,i.p.)	Quercetin ^d	Quercitrin ^d	Isoquercitrin	Hyperin ^d	Rutin ^c
0	27.4±2.3	33.4±1.0	35.8±2.2	30.6±1.2	24.8±1.2
0.1	25.0±1.8	34.4±1.4	30.4±0.6	31.2±2.7	22.0±1.0
1	23.8±1.9	30.8±2.0	29.0±2.6	25.6±4.1	25.6±2.5
10	23.8±1.5	23.4±0.8**	27.8±2.4	19.8±1.7**	22.2±1.1
100	19.6±2.4**	19.6±2.4**	30.4±2.7	18.6±1.8**	17.2±1.5*
p value (ANOVA)	0.009	0.000	0.168	0.004	0.012

^a Mice (n=5) were treated with MNU(40mg/kg,i.p.) and flavonoid(p.o.), simultaneously and then peripheral blood was collected from tail after 48 h.

^b Significantly different from the control group at *p<0.05 and **p<0.01 (Student's t-test)

^c Significant dose-dependent decrease (p<0.05; one-way ANOVA).

^d Significant dose-dependent decrease (p<0.01; one-way ANOVA).

41.3%(p<0.01), hyperin이 10 mg/kg에서 35.2%(p<0.01), 100 mg/kg에서 39.2%(p<0.01) 및 rutin은 100 mg/kg에서 30.6%(p<0.01)을 나타내었으나 isoquercitrin은 모든 시험용량에서 유의성있는 억제효과를 나타내지않았다. 한편, one-way ANOVA test에서 quercetin, quercitrin과 hyperin이 p<0.01, rutin이 p<0.05의 유의성있는 용량의존적 억제경향을 나타내었고 SCE test에서와 마찬가지로 isoquercitrin은 유의성이 없었다. 억제효과를 100 mg/kg투여군에서 비교해보면 quercetin이 37.9%, quercitrin이 41.3%, isoquercitrin이 15.0%, hyperin이 39.2%, rutin이 30.6%로서 본 실험에서는 분자량을 감안하지 않고 각 유도체들의 0.1~100 mg/kg을 경구투여했음을 고려할 때 비배당체인 quercetin이 배당체들보다 억제활성이 크다고 판단할 수 없었다.

고 찰

최근까지 식물성 polyphenol 화합물중 flavonoid 화합물은 약 200여종으로서 식물계에 널리 분포하고 있으며 사람에게 일상적으로 섭취되고 있는 물질이기 때문에 여러가지 생리활성이 연구되어 왔다.^{16,17)} 사람에게서 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.¹⁸⁾

본 연구에서는 flavonoid 화합물 중 flavonol 유도체인 quercetin과 그 배당체들을 대상으로하여 MNU와 같은 1차 발암물질에 의해 유도된 각종 유전독성(자매염색분체교환

과 소핵생성)의 억제 활성을 비교하였다. MNU와 같은 N-nitroso화합물들은 쉽게 가수분해되어 1-alkane diazotic acid를 생성하고, 이어서 alkyl diazonium ion으로 분해되어 DNA alkylation을 하게 된다. 이때 생성되는 DNA 부가체들은 자매염색분체교환과 같은 DNA손상에 의한 돌연변이와 발암에 깊은 관련이 있다고 잘 알려져있다.¹⁹⁾

in vitro mouse spleen lymphocyte에서 quercetin 및 배당체들은 MNU유도 SCE에 대하여 약간의 억제경향을 나타내었으나 뚜렷하지는 않았다. 그러나 quercetin이 10⁻⁵ M에서 10.0%(p<0.01), hyperin이 10⁻⁶ M에서 5.8%(p<0.05), 10⁻⁵ M에서 11.5%(p<0.01)으로서 약한 억제효과를 나타내었으며 quercitrin, isoquercitrin 및 rutin은 거의 활성을 나타내지않았다. *in vitro* 시험에서의 이같은 결과는 전보²⁰⁾에서 보고한 바 있는 quercetin과 같은 flavonol화합물인 galangin (3,5,7-trihydroxy flavone)이 chinese hamster ovary cell에서 MNU에 의한 SCE생성에 S-9 mix 첨가시에는 억제활성이 나타났으나 S-9 mix 첨가없이 전혀 억제활성을 나타내지 못했던 결과와 유사하였다.

한편, 마우스에서 MNU유도 MNRET에 대한 quercetin 및 배당체들의 효과는 *in vitro* 실험이었던 mouse spleen lymphocyte SCE시험에서와는 달리 뚜렷한 용량의존적 억제경향을 나타내었다. 억제효과를 100 mg/kg투여군에서 비교해보면 quercetin이 37.9%, quercitrin이 41.3%, isoquercitrin이 15.0%, hyperin이 39.2%, rutin이 30.6%였다. 그러나 본 실험에서는 분자량을 감안하지 않고 각 유도체들을 0.1~100 mg/kg씩 동일하게 경구투여했음을 고려할때 비배당체인 quercetin이 배당체들보다 활성이 크다고 판단할 수 없었다.

이같이 *in vitro* 시험계에서는 억제활성이 거의 나타나지 않고, *in vivo* 시험계에서는 억제활성이 잘 나타난 것은 *in vitro*에서 mouse spleen lymphocyte 자체의 대사능이 미약하기 때문에 quercetin의 대사활성화된 대사물에 의해서 일어나는 유전독성억제를 나타내지 못했을 가능성이 있다. 실제로 flavonoid들은 *in vitro*보다 대사활성화계가 존재하는 *in vivo* 시험계에서 유전독성억제활성을 잘 보이고 있다.²⁰⁾ 일반적으로 유전독성억제물질들의 작용기전은 MNU 및 그 분해산물들의 표적기관으로의 도달 및 반응차단, 라디칼들의 포착제거, 전암세포의 promotion 억제, DNA repair 기능향진 등이 제시되고 있다.²¹⁾ 본 연구의 결과 *in vitro*에서보다 *in vivo*에서 quercetin을 비롯한 배당체들이 MNU에 의한 유전독성을 비교적 잘 억제하는 것은 이러한 유전독성억제효과가 대사활성화된 대사물에 의해서 일어나고, 이들 대사물들이 MNU에서 직접 유래되는 alkylating ion과의 소거작용, 또는 DNA와 MNU와의 작용방지를 통해서 이같은 억제효과가 나타나는 것으로 판단되며 보다 정확한 작용기전의 연구가 필요하다.

한편, quercetin 배당체들은 구강이나 장관의 박테리아가 생산하는 glycosidase에 의해서 당이 가수분해되어 생성된 유리 quercetin만이 흡수된다고 알려져 있다. 그러나 본 실험의 *in vitro* SCE test에서 사용한 mouse spleen lymphocytes는 quercetin 배당체들을 가수분해할 수 있는 효소활성이 약하여 세포막 통과가 가능한 aglycone의 생성이 용이하지 않았기 때문에 MNU가 세포내 DNA를 손상시켜 일어나는 SCE생성을 억제하지 못했을 가능성도 배제할 수 없다.

Flavonoid 화합물의 유전독성 억제효과에 대해서 많은 연구자들에 의해서 보고되고 있는데 이 중 본 연구와 관련된 보고를 살펴보면 다음과 같다. Wall²²⁾ 등은 Ames test (*Salmonella typhimurium* TA 98 사용)을 이용한 antimutagenicity test에서 2-aminoanthracene에 대해서 neobavaisoflavon(97%), galangin(97%), rhamnetin(78%) 등에서 억제 효과가 컸으며, morin(20%), quercetin(0%) 및 rutin(0%) 등은 억제 효과가 적거나 없다고 보고하였다. Francis²³⁾ 등은 aflatoxin B₁에 의한 TA 98, TA 100 균주를 이용한 시험에서 18가지 flavonoid의 antimutagenicity를 검정한 결과 flavonoid 화합물중 일반적으로 flavanol 유도체의 효과가 컸으며 그 순서는 kaempferol, morin, fisetin, rutin, quercetin순이었으며, flavanone이나 flavanol유도체

들은 억제효과가 크지 않았음을 보고하였다. Alldrick²⁴⁾ 등은 host-mediated bacterial mutation assay를 이용하여 quercetin과 rutin을 섞은 사료를 2주간 마우스에 먹었을 때 MeIQ 및 Trp-p-2와 같은 heterocyclic amine의 변이원성에 대하여 억제효과가 있음을 보고하였다. Tumor promotion에 미치는 flavonoid들의 효과에 관한 연구성과에 관해서 살펴보면 Van Duuren²⁵⁾ 등의 quercetin, quercitrin과 rutin 등이 two-stage mouse skin carcinogenesis 실험에서 그 자체로는 tumor promoting 활성이 없다고 보고된 바 있고, Hirota²⁶⁾ 등은 telocidin 같은 promotor에 의한 작용을 luteolin, quercetin, chrysin, hesperidin 순서로 강하게 억제시켰음을 보고하였다.

본 연구에서 사용한 MNU와 같은 1차발암물질에 대한 flavonoid 화합물들의 유전독성억제효과와 연구사례를 살펴보면 Francis²⁷⁾ 등이 quercetin과 rutin을 포함하는 몇몇 flavonoid들이 direct-acting carcinogen인 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)에 의해 Ames test에서 유도된 돌연변이에 대하여 억제효과를 나타내었다고 보고한 바 있다. 또한 Deschner²⁸⁾ 등은 마우스의 사료중에 2.0% quercetin과 1.0, 또는 4.0% rutin의 급여가 azoxymethanol에 의해 생성되는 colonic neoplasia를 억제하였다고 보고하였다. Verma²⁹⁾ 등은 랫트에게 2% 및 5% quercetin 함유 사료의 급여가 MNU에 의해 생성되는 유암의 발생빈도를 억제하였다고 보고하였다. 본 연구결과와 함께 이들의 연구결과들로 보아 quercetin과 그 배당체들은 alkyl radical에 의한 돌연변이나 발암에 억제효과가 있는 것이 확실시되었으며, 적어도 본 실험의 조건하에서는 aglycone과 glycone 상호간의 억제활성의 차이는 명확하지 않은 것으로 나타났다. 따라서 quercetin 과 그 배당체들은 유전독성억제활성을 통한 1차 발암물질에 대한 암화학예방요법제로서의 가능성이 있는 것으로 사료되며 향후 작용기전연구 등의 심도있는 연구가 필요한 생리활성물질로 판단된다.

감사의 말씀

이 논문은 1994년도 한국학술진흥재단의 공모과제연구비에 의하여 연구되었음을 밝히며 이에 감사하는 바이다. 또한, 본 연구를 위해 flavonoid 표품을 기꺼이 제공하여주신 부산수산대학교 최재수교수님께 감사드립니다.

국문요약

Quercetin 및 그 배당체들은 *in vitro*에서 N-methyl-N-nitrosourea (MNU)에 의한 자매염색체교환생성을 비교적 억제시키지 못하였으나 *in vivo*에서 MNU에 의한 소핵생성을 용량의존적으로 유의성있게 억제시켰다. 그

러나 본 실험의 조건하에선 aglycone과 glycone의 유전독성억제활성의 차이는 발견할 수 없었다. *in vivo* 실험에서 유의성있는 억제효과가 나타나는 것으로 보아 quercetin과 그 배당체들은 MNU와 같은 1차 발암물질에 의한 유전독성에 억제효과를 갖는 물질로서 암화학예방요법제(cancer chemopreventive agent)로서의 가능성이 있는 화합물로 판단된다.

참고문헌

- Jones, E. and Hughes, R.E.: Quercetin, flavonoids, and the life span of mice. *Exp. Gerontol.*, **117**, 213-219(1982).
- MacGregor, J.T.: Genetic toxicology of dietary flavonoids. *Prog. Clin. Biol. Res.*, **213**, 33-43(1986).
- MacGregor, J.T.: Genetic and carcinogenic effects of plant flavonoids;an overview, Nutritional and toxicology aspects of food safety. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **177**, 497-526(1984).
- Stavric, B.: Mutagenic food flavonoids, *Fed. Proc.*, **43**, 2475-2458(1984).
- Hatcher, J.F. and Bryan, J.T.: Factors affecting the mutagenic activity of quercetin for *Salmonella typhimurium* TA98:metal ions,antioxidants, and pH. *Mutat. Res.*, **148**, 13-23(1985).
- Bjeldanes, L.F. and Chang, G.W.: Mutagenic activity of quercetin and related compounds. *Science*(Wash. DC), **197**, 577-578(1977).
- MacGregor, J.T. and Jurd, L.: Mutagenicity of plant flavonoids:structural requirements for mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.*, **54**, 297-309(1978).
- Leighton, T., Ginther, C., Fluss, L., Hater, W.K., Cansado, J. and Notario, V.: Molecular characterization of quercetin and quercetin glycosides in *Allium* vegetables. In Phenolic compounds in food and their effects on health II(Huang, M-T., Ho, C-T. and Lee C.Y. eds.), ACS Symposium Series 507, American Chemical Society, pp220-238(1992).
- Huang, M. and Ferraro, T.: Phenolic compounds in food and cancer prevention. In Phenolic compounds in food and their effects on health II(Huang, M-T., Ho, C-T. and Lee C.Y. eds.), ACS Symposium Series 507, American Chemical Society, pp28-34(1992).
- Stich, H.F., Karim, J., Koropatnick, J. and Lo, L.: *Nature*, **260**, 722-724(1976).
- Heo, M.Y., YU, K.S., Kim, K.H., Kim, H.P. and Au, W. W.: Anticlastogenic effect of flavonoid against mutagen-induced micronuclei in mice. *Mutat. Res.*, **284**, 243-249(1992).
- Heo, M.Y., Lee, S.J., Kwon, C.H., Kim, S.W., Sohn, D. H., and Au, W.W.: Anticlastogenic effects of galangin against bleomycin-induced chromosomal aberrations in mouse spleen lymphocytes. *Mutat. Res.*, **311**, 225-229(1994).
- Heo, M.Y., Lee, H.J., Sohn, S.J., Au, W.W.: Anticlastogenic effect of galangin against mitomycin C-induced micronucleated reticulocytes in mouse peripheral blood. *Mutat. Res.*, in press(1996).
- Wolff, S.: Measurement of sister chromatid exchange in mammalian cells, In DNA repair. A laboratory manual of research procedure (Hanawalt, P.C. and Friedberg, E.C. eds.), Marcel Dekker, New York, pp. 575-586 (1981).
- Hayashi, M., Morita, T., Kodama, Y., Sofuni, T. and Ishidate, Jr., M.: The micronucleus assay with peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutat. Res.*, **278**, 209-213(1990).
- Kuhnau, J.: The flavonoids. A class of semi-essential food component: Their role in human nutrition. *Wld. Rev. Nutr. Diet*, **24**, 117-191 (1976).
- Cody, V., Middleton, E., Harborne, J.B.: Plant flavonoids in biology and medicine, A.R. Liss, New York (1986)
- Brown, J.P.: A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds, *Mutat. Res.*, **75**, 243-277 (1980).
- Dixit, R. and Gold, B.: Inhibition of N-methyl-N-nitrosourea-induced mutagenicity and DNA methylation by ellagic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 8039 (1986)
- 손수정, 김정환, 김영진, 허인회, 허문영: N-Methyl-N-nitrosourea 유도 자매염색분체교환생성과 DNA 메틸화에 대한 galangin의 억제효과. *약학회지*, **39**, 94-101(1995).
- Bhattacharya, R. K. and Firozi, P. F.: Effect of plant flavonoids of microsomes catalyzed reactions of aflatoxin B1 leading to activation and DNA adduct formation, *Cancer letters*, **39**, 85-91 (1988).
- Wall, M.E., Wani, M.C., Manikumar, G., Abraham, P., Taylor, H., Hughes, T.J., Warner, J. and McGivney, R.: Plant antimutagenic agents. 2. Flavonoids. *J. Nat. Prod.*, **51**, 1084-1091 (1988).

23. Francis A.R., Shetty, T.K. and Bhattacharya, R.K.: Modifying role of dietary factors on the mutagenicity of aflatoxin B₁: *in vitro* effect of plant flavonoids. *Mutat. Res.*, **222**, 393-401 (1989).
24. Alldrick, A.J., Lake B.G. and Rowland, I.R.: Modification of *in vivo* heterocyclic amine genotoxicity by dietary flavonoids. *Carcinogenesis*, **10**, 365-370 (1989).
25. Van Duuren, B.L., Sivak, A., Langseth, L. Goldschmidt, B.M. and Segal, A.: Initiators and promotor in tobacco carcinogenesis. NCI Monograph, **28**, 173 (1968).
26. Hirota F.: Inhibition of tumor promotion by flavonoids, in plant flavonoids in Biology and Medicine. Alan R. Liss. Inc., pp429 (1986).
27. Francis A.R., Shetty, T.K. and Bhattacharya, R.K.: Modulating effect of plant flavonoids on the mutagenicity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis*, **10**, 1953-1955 (1989).
28. Deschner, E., Rupe`rto, J., Wong, G. and Newmark, H.L.: Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. *Carcinogenesis*, **12**, 1193-1196(1991).
29. Verma, A.K., Johnson, J.A., Gould, M.N. and Tanner, M. A.: Inhibition of 7,12- dimethylbenz(a)anthracene- and N-nitrosomethylurea-induced rat mammary cancer by dietary flavonol quercetin. *Cancer Research*, **48**, 5754-5758(1988).