

Galangin 및 양강추출물의 KBrO₃ 유도 DNA 및 염색체 손상에 대한 보호효과

양혜은 · 허문영[#]

강원대학교 약학대학

(Received July 5, 2010; Revised September 25, 2010; Accepted September 30, 2010)

Protective Effect of the 70% Ethanolic Extract of *Alpinia officinarum* and Galangin Against KBrO₃-induced DNA and Chromosomal Damage in Mice

Hye Eun Yang and Moon Young Heo[#]

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

Abstract — The aim of this study was to evaluate the *in vivo* effect of galangin and the 70% ethanolic extract of *Alpinia officinarum* (AO) toward KBrO₃-induced DNA and chromosomal damage in mice. Galangin and AO inhibited the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH2'dG) as an indicator of DNA oxidative damage in the liver cell. Galangin and AO showed the inhibitory effect on the formation of DNA single strand break in the splenocyte by single cell gel electrophoresis (SCGE) assay and also inhibited micronucleated reticulocyte (MNRET) formation of peripheral blood in tail blood of mice. Vit-E revealed antigenotoxic effects in DNA and chromosome levels, but galangin was more potent active compound compare to vit-E under our experimental conditions. The results suggest that the extract of *Alpinia officinarum* containing galangin can modify the oxidative DNA and chromosomal damage and may act as chemopreventive agent against oxidative stress *in vivo*.

Keywords □ galangin, vit-E, *Alpinia officinarum*, potassium bromate, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, oxidative DNA and chromosomal damage, antigenotoxic effect

양강(良姜)은 생강과(Zingiberaceae)식물인 *Alpinia officinarum*의 근경이다. 특히 flavonoid 성분으로서 galangin, kaempferide, alpinin 등을 함유하고 있어 항산화작용, 항염증작용, 유전독성억제작용 등 여러 가지 생리활성이 보고되어 있다.¹⁾ 그동안 항산화성 유전독성억제제가 노화와 암 발생에 예방적 기능을 할 수 있다는 보고들이 많았다.^{2,3)} 이에 본 연구에서는 양강추출물과 함유 성분인 galangin을 대상으로 전보^{4,5)}의 *in vitro* 실험에 이어 *in vivo*에서 항산화성 유전독성억제작용을 평가하였다. 마우스에서 강력한 산화제인 KBrO₃ 유도에 대한 간세포의 8-OH2'dG 분석과 비장세포의 single cell gel electrophoresis(SCGE)를 실시하였다. 또한, 마우스 말초혈액을 이용한 소핵시험을 실시하여 염색체 손상에 대한 억제효과도 규명하였다. 본 연구결과, 양강추

출물 및 다량 함유성분인 galangin이 dl- α -tocopherol(vit-E)과 비교하여 *in vivo* 수준에서도 DNA 산화적 부가체 생성, DNA single strand break 생성과 염색체손상 등에 대한 억제활성이 컸으며 이에 관련된 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실험방법

실험재료

서울의 경동시장에서 구입한 양강(*Alpinia officinarum*)의 근경 50 g을 70% 에틸알콜 300 ml를 가하여 7일간 실온에서 추출하고 와트만여지(No.6)로 여과한 후 진공농축하여 양강추출물을 얻었다. Galangin(3,5,7-trihydroxy flavonol)은 aldrich사에서 구입한 것을 재결정 등으로 정제하여 표준품으로 사용하였다. 양강 70% 에탄올추출물 중 galangin의 함량은 HPLC로 정량한 결과 4.4%였으며, 이 조성물을 실험에 사용하였다.⁵⁾ 한편 dl- α -tocopherol, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 2'-deoxyguanosine,

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 033-250-6914 (팩스) 033-255-7865
(E-mail) myheo@kangwon.ac.kr

nuclease P1, alkaline phosphatase, normal melting point agarose, low melting point agarose, Triton X-100, ethidium bromide는 Sigma사에서 구입하였다. Minimum essential medium(MEM), phosphate-buffered saline(PBS), fetal bovine serum (FBS), trypsin-EDTA, *l*-glutamine, penicillin-streptomycin, sodium dodecyl sulfate(SDS)는 GIBCO사에서, HPLC용 methanol과 H₂O는 EM-science사에서 구입하였다. KBrO₃, sodium acetate 등 그 외의 모든 시약은 특급시약을 사용하였다.

실험동물

본 실험에서 사용한 ICR 마우스는 (주)대한실험동물에서 공급받아 강원대 약대 동물사육실내에 있는 양압의 무균동물 챔버에서 23±1°C 및 상대습도 55±7%의 조건으로 7~10일 적응시킨 후 사용하였다. 사료는 마우스용 pellet 사료를 주었으며 물은 자유롭게 먹게 하고, 12 h/12 h(L/D) cycle의 조건에서 실험하였다.

8-OH2'dG의 정량

마우스에 Vit E, galangin, 양강 extract(AO)를 농도별로 경구 투여하고 동시에 양성대조물질로 KBrO₃ 80 mg/kg을 복강투여한 다음 24 hr 후에 간을 적출한 후 homogenize하여 원심분리한 pellet를 T-Mg-S buffer로 세척하고, Lysis Buffer(10 mM Tris HCl, 400 mM NaCl, 2 mM Na₂EDTA, pH 8.2) 3 ml, 10% SDS(pH 7.2) 200 µl, Proteinase-K(20 mg/ml) 50 µl, RNAase A(20 mg/ml) 40 µl를 가하여 37°C incubator에서 밤새 incubation시켰다. 여기에 6 M NaCl 1 ml를 가하여 vortex한 후 15분간 얼음속에 담갔다가 2000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 상등액을 조심스럽게 취하여 ethanol을 가하여 DNA pellet을 얻었다. 여기에 10 mM Tris(pH 7.4 containing 1 mM EDTA) 0.3 ml, 0.5 M sodium acetate(NaOAc) 30 µl, 0.25 M MgCl₂ 10 µl를 가한 후 5분간 끓이고 5~10분 동안 냉각시켰다. Nuclease P1(0.5 mg/ml) 10 µl를 가해 50°C에서 30분간 가온시키고, 1 M Tris(pH 10.6) 10 µl와 alkaline phosphatase(0.1 unit/µl) 10 µl를 가해 37°C에서 1시간 가온시켰다. 2.9 M acetic acid 10 µl를 가해 0.2 µm filter 여과해서 이를 electrochemical-detector(guard cell-850 mV, analytical cell-400 mV)와 UV-detector(260 nm)를 장착한 HPLC(Shimadzu 9A)로 C-18 칼럼을 써서 이동상용매로서는 100 mM sodium acetate in 5% methanol(pH 5.2 with H₃PO₄)를 써서 8-OH2'dG와 2'-dG를 동시에 분리정량하였다.^{4,6,7)}

Comet시험(single cell gel electrophoresis)

검체가 투여된 마우스의 비장을 적출하여 Comet assay를 실시하였다.⁸⁾ 시료 및 양성대조물질 투여 24 hr 후에 spleen을 적출하여 현탁한 후 원심분리한 pellet에 0.5%-LMPA(low melting

point agarose)를 200 µl 가해준 뒤 vortex를 각각 10초씩 해주었다. 0.65%-NMPA(normal melting point agarose) 100 µl를 미리 입힌 slide(fully frosted)에 이 액 50 µl를 떨어뜨린 후 cover slide로 덮었다. 냉장고에서 약 15분간 굳힌 뒤 cover slide를 제거하고, 그 위에 다시 0.5%-LMPA를 100 µl 떨어뜨린 후 cover slide로 덮고 냉장고에서 15분간 굳혔다. Cover slide를 제거한 후 lysis buffer(2.5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris, pH 10, 10% DMSO, 1% triton X-100)에 담가서 약 1시간 lysis 시켰다. 그 후 electrophoresis buffer(300 mM NaOH, 1 mM Na₂EDTA, pH 13)에 20분간 담가 정치하였다. Electrophoresis apparatus에 slide를 양극 쪽으로 배열한 뒤 25 V, 300 mA에서 15분간 electrophoresis하였다. Slide를 꺼내 10분씩 3번 0.4 M Tris(pH 7.5)에 담가 중화하였다. Tray에 걸어 충분히(15분) 건조시킨 후 ethidium bromide(2 µg/ml)를 20 µl씩 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. 데이터는 tail length(TL)와 olive tail moment(% tail DNA×distance between head and center of gravity of DNA in the tail, OTM)으로 나타내었다.⁹⁾

소핵시험(peripheral blood micronucleus assay)

검체가 투여된 마우스의 꼬리 정맥에서 말초혈액을 채혈하여 소핵시험을 실시하였다.¹⁰⁾ 시료 및 양성대조물질 투여 24 hr 후 마우스 꼬리 정맥을 주사바늘로 찔러 소량 분출해 나오는 혈액을 미리 acridine orange로 코팅된 슬라이드 상에 떨어뜨리고 곧 카바글래스를 덮고 적어도 2시간 이후에 관찰하였다. 관찰은 형광현미경(blue excitation, 488 nm & yellow filter, 515 nm)에서 1000×로 하였다.

통계처리

모든 data는 Student's t-test를 이용하여 통계처리하였다.

실험결과

마우스 간에서 KBrO₃ 유도 8-OH2'dG 생성에 미치는 억제효과

Fig. 1에 적출된 마우스 간세포에서 KBrO₃ 투여용량에 따른 8-OH2'dG 생성률(8-OH2'dG/10⁵ 2'-dG)을 나타내었다. 투여용량 20, 60, 80 mg/kg 투여시 각각 23.0(p<0.01), 19.5, 53.9(p<0.01)의 생성률을 나타내었으며 음성대조군인 2.5% DMSO투여군(7.3)보다 증가경향을 나타내었다. 한편 Fig. 2에 KBrO₃(80 mg/kg) 유도 8-OH2'dG 생성에 대한 vit-E, galangin, 양강추출물의 효과를 나타내었다.

Vit-E는 투여용량 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg 양성대조군

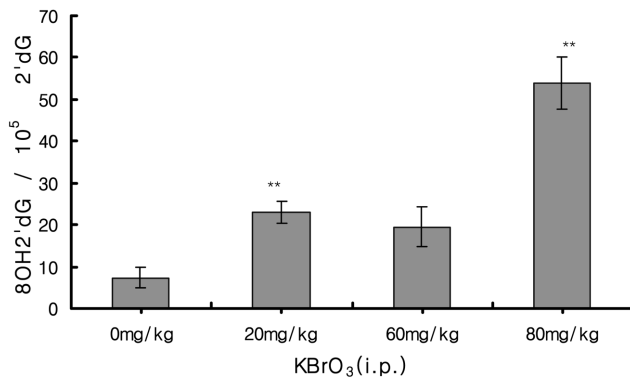


Fig. 1 – KBrO₃ induced the formation of 8-OH2'dG in the liver of mice. ¹KBrO₃ (i.p.) was treated and the liver from mouse was removed at 24 hours ²n=3~5, Significantly different from positive control group (Student's t-test). * p<0.05, ** p<0.01. AO: the ethanol extract of *Alpinia officinarum*. Other experimental conditions were as described in materials and methods section.

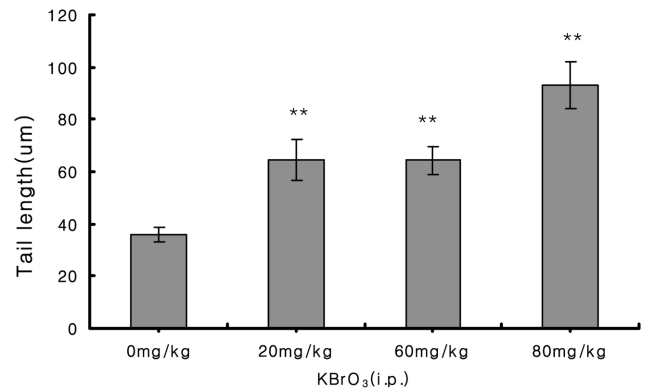


Fig. 3 – KBrO₃ induced DNA damage in mouse spleen lymphocyte by comet assay. ¹KBrO₃ (i.p.) was treated and the liver from mouse was removed at 24 hours ²n=3~5, Significantly different from positive control group (Student's t-test). * p<0.05, ** p<0.01. AO: the ethanol extract of *Alpinia officinarum*. Other experimental conditions were as described in materials and methods section.

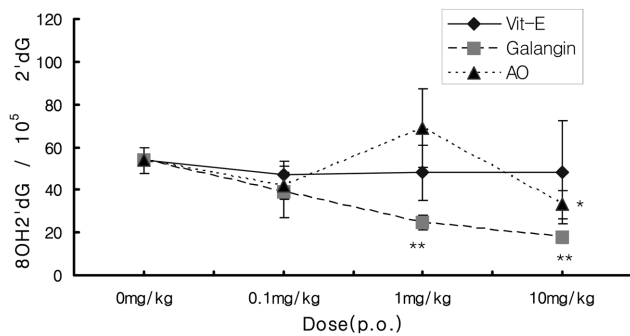


Fig. 2 – The inhibitory effect of vit-E, galangin and AO on the formation of 8-OH2'dG by KBrO₃ (80 mg/kg) in the liver of mice. ¹Sample (p.o.) was treated, and then was treated with KBrO₃ (80 mg/kg, i.p.), simultaneously. Liver from mouse was removed at 24 hours after final treatment of KBrO₃. ²n=3~5, Significantly different from positive control group (Student's t-test). * p<0.05, ** p<0.01. AO: the 70% ethanolic extract of *Alpinia officinarum*. Other experimental conditions were as described in materials and methods section.

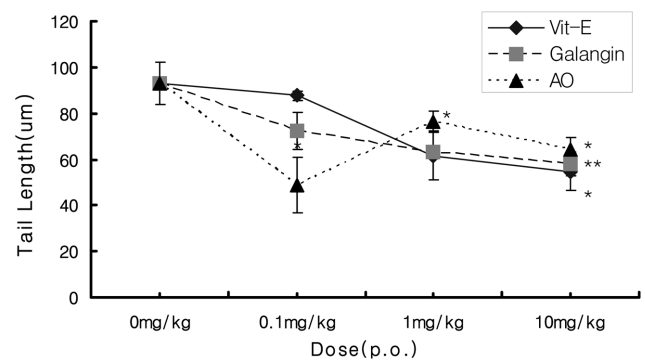


Fig. 4 – The antigenotoxic effect of vit-E, galangin and AO on the DNA damage by KBrO₃ (80 mg/kg) in the spleen lymphocyte by comet assay. ¹Sample (p.o.) was treated, and then was treated with KBrO₃ (80 mg/kg, i.p.), simultaneously. Liver from mouse was removed at 24 hours after final treatment of KBrO₃. ²n=3~5, Significantly different from positive control group (Student's t-test). * p<0.05, ** p<0.01. AO: the ethanol extract of *Alpinia Officinarum*. Other experimental conditions were as described in materials and methods section.

의 8-OH2'dG 생성률(8-OH2'dG/10⁵ 2'-dG)인 53.9 보다 약 10% 수준의 생성억제율을 나타내었으며 투여용량 모두에서 유의성을 나타내지는 못했다. 그러나, galangin은 투여용량 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 38.9, 24.6, 17.6의 8-OH2'dG 생성률을 나타내어 투여용량 모두에서 억제효과를 나타내었다. 생성억제율은 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 27.8%, 54.4% (P<0.01), 67.3%(P<0.01)로서 투여농도에 따라 억제경향은 잘 나타내었으며, vit-E 보다 높은 억제활성을 나타내었다. 한편, 양강추출물은 투여용량 0.1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 41.9, 33.1의 8-OH2'dG 생성률을 나타내어 각각 22.3%, 38.6%(P<0.05)의 억제효과를 나타내었다.

마우스 비장세포에서 KBrO₃ 유도 DNA breakage 생성에 미치는 억제효과

Fig. 3에 적출된 마우스 비장세포에서 KBrO₃ 투여용량에 따른 DNA손상을 Tail length(TL)로 나타내었다. KBrO₃ 투여용량 20, 60, 80 mg/kg 투여시 TL로서 각각 64.5(p<0.01), 64.3(p<0.01), 93.0(p<0.01)의 생성률을 나타내었으며 음성대조군인 2.5% DMSO 투여군(35.9)보다 증가경향을 나타내었다.

한편 Fig. 4에 KBrO₃(80 mg/kg) 유도 DNA 손상에 대한 vit-E, galangin, 양강추출물의 효과를 나타내었다. Vit-E는 투여용량 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 87.7, 61.3, 54.7의 TL

을 나타내어 투여용량 모두에서 억제효과를 나타내었다. 생성억제율은 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 5.7%, 34.1%, 41.2%($P<0.05$)로서 투여농도에 따라 억제경향은 잘 나타내었다. 한편, galangin은 투여용량 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 72.4, 63.2, 57.8의 TL을 나타내어 투여용량 모두에서 억제효과를 나타내었다. 생성억제율은 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 22.1%, 32%($P<0.05$), 37.8%($P<0.01$)로서 투여농도에 따라 억제경향을 잘 나타내었으며 vit-E 보다 낮은 투여용량에서 억제활성을 크게 나타내었다. 또한 양강추출물은 투여용량 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 48.7, 76.6, 64.3의 TL을 나타내어 생성억제율은 각각 47.6%($P<0.05$), 17.6%, 30.9%($P<0.05$)의 억제효과를 나타내었다.

마우스 말초혈액에서 $KBrO_3$ 유도 소핵생성에 미치는 억제효과

Fig. 5 마우스말초혈액에서 $KBrO_3$ 투여용량에 따른 소핵생성률을 나타내었다. $KBrO_3$ 투여용량 20, 60, 80 mg/kg 투여시 MNRET/1000RET로서 각각 7.7($p<0.01$), 13.3($p<0.01$), 15.0($p<0.01$)의 생성률을 나타내었으며 음성대조군인 2.5% DMSO 투여군(2.0)보다 증가경향을 나타내었다. 한편, Fig. 6에 $KBrO_3$ (80 mg/kg) 유도 염색체손상에 대한 vit-E, galangin, 양강추출물의 효과를 나타내었다. Vit-E는 투여용량 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 14.7, 15.7, 7.5를 나타내어 투여용량 0.1 mg/kg, 10 mg/kg에서 억제효과를 나타내었다. 생성억제율은 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 2.0%, -4.7%, 50.0%($P<0.01$)로서 투여농도에 따라 억제경향이 나타나지는 않았으나 10 mg/kg투여군에서 억제효과가 잘 나타났다. 한편, galangin은 투여용량 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 14.2, 12.0, 8.6을 나타내어 투여용량 모두에서 억제효과를 나타내었다. 생성억제율

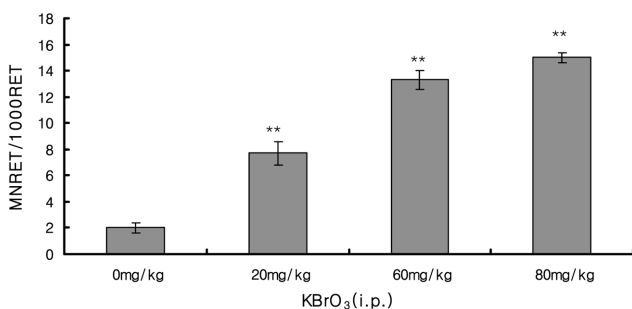


Fig. 5 – $KBrO_3$ induced the formation of micronucleus in the peripheral blood of mice. ¹ $KBrO_3$ (i.p.) was treated and the peripheral blood from mouse tail was taken at 24 hours after final treatment of $KBrO_3$. ² $n=3-5$, Significantly different from positive control group (Student's t-test). * $p<0.05$, ** $p<0.01$. AO: the ethanol extract of *Alpinia officinarum*. MNRET: micronucleated reticulocyte, RET: reticulocyte. Other experimental conditions were as described in materials and methods section.

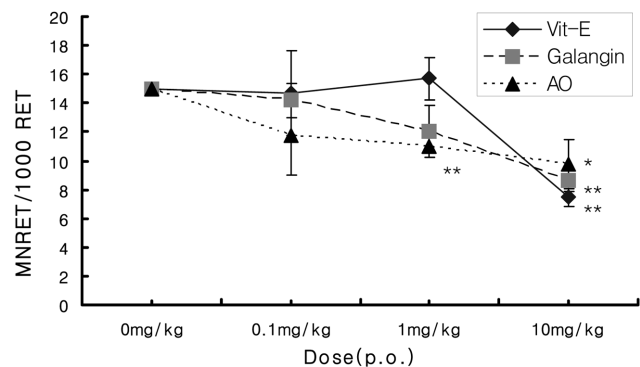


Fig. 6 – Anticlastogenicity of vit-E, galangin and AO on $KBrO_3$ -induced micronucleated reticulocyte (MNRET) in mouse peripheral blood. ¹Sample (p.o.) was treated, and then was treated with $KBrO_3$ (80 mg/kg, i.p.), simultaneously. Peripheral blood from mouse tail was taken at 24 hours after final treatment of $KBrO_3$. ² $n=3-5$, Significantly different from positive control group (Student's t-test). * $p<0.05$, ** $p<0.01$. AO: the ethanol extract of *Alpinia officinarum*. MNRET: micronucleated reticulocyte, RET: reticulocyte. Other experimental conditions were as described in materials and methods section.

은 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 5.3%, 20.0%, 42.7%($P<0.01$)로서 투여농도에 따라 억제경향은 나타내었으며 vit-E 보다 억제경향이 잘 나타났다. 또한, 양강추출물은 투여용량 0.1 mg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg에서 각각 11.8, 11, 9.8을 나타내어 생성억제율은 각각 21.3%, 26.7%($P<0.01$), 34.7%($P<0.05$)의 용량에 따른 억제경향을 나타내었다.

고 찰

본 연구에서는 암발생과 노화 등에 관련이 깊은 ROS(reactive oxygen species)에 의해 생성되는 산화적 DNA 및 염색체 손상에 대하여 유전독성억제 가능성이 있는 물질로서 flavonoid 중 galangin과 이를 다량 함유하고 있는 양강추출물을 선정하여 항산화비타민인 *dl-α-tocopherol*과 *in vivo* 활성을 비교하였다. Galangin은 항박테리아,¹¹⁾ 항바이러스작용,¹²⁾ 항염증작용,¹³⁾ 항산화작용¹⁴⁾ 등이 보고되어 있다. 특히 galangin은 항산화력이 큰 물질로서 low oxidation potential(1.5 V)를 가지고 있어 지질과 산화억제효과가 강하고,¹⁵⁾ 비교된 flavonoid 중 가장 LDL의 과산화방지효과가 컸다고 보고되었다.¹⁶⁾ 또한 galangin은 CCl_4 유도 microsomal lipid peroxidation도 강하게 억제시키고 있다고 보고된 바 있다.¹⁷⁾

본인들의 선행연구에서도 양강추출물과 함유 주성분인 galangin은 프리라디칼소거작용과 지질과산화억제활성을 나타내었으며, *in vitro* cell line에서 H_2O_2 또는 KO_2 유도 세포독성보호효과, DNA single strand breakage 보호작용 및 adriamycin 유도 염

색체 손상 억제효과를 나타내었다.⁵⁾ 또한, galangin은 산화적 stress에 의한 calf thymus DNA 및 CHL 세포에서의 8-OH2'dG의 생성에 있어서 양호한 억제효과와 comet assay를 활용한 CHL 세포에 미치는 H₂O₂ 유도 DNA strand 절단에 있어서도 양호한 억제효과를 나타내어 galangin의 H₂O₂/Fe²⁺ 유도 8-OH2'dG 생성억제효과와 DNA strand 절단 억제효과로 보아 산화적 스트레스에 대한 항산화작용을 갖는 유전독성억제물질(antioxidative antigenotoxic agent)로서 작용하는 것이 밝혀졌다.⁴⁾

본 연구에서는 *in vitro*에서 다양한 항산화성 유전독성억제활성을 가진 galangin과 양강추출물을 대상으로 하여 마우스를 이용한 *in vivo* 실험에서 간세포를 이용하여 8-OH2'dG 생성량의 변화를 평가하였으며, 비장세포를 이용하여 single cell gel electrophoresis(comet assay)에 의한 DNA strand break 생성의 변화와 말초혈액을 이용하여 소핵시험에 의한 염색체손상의 변화를 동시에 비교하였다.

간세포에서 KBrO₃(80 mg/kg) 유도 8-OH2'dG 생성에 대한 galangin이 억제활성이 가장 크게 나타났다. 양강추출물도 galangin 보다는 낮은 편이었지만 vit-E 보다 활성이 크게 나타났다. 비장세포를 이용한 DNA 손상시험에서는 galangin과 vit-E 모두 활성이 나타났으나 galangin이 활성이 더 크게 나타났다. 양강추출물의 경우에는 투여용량에서 억제효과가 나타났으나 용량에 따른 활성증가가 잘 나타나지 않은 편이었다. 말초혈액을 이용한 소핵시험에 있어서도 galangin이 활성이 가장 크게 나타났다. 양강추출물도 galangin 보다는 거의 비슷하거나 낮은 편이었지만 vit-E 보다 활성이 훨씬 크게 나타났다.

본 연구에서 양성대조물질로 사용한 KBrO₃는 강력한 산화제로서 세포내 O₂⁻, OH 등 ROS 생성^{18,19)}과 과산화지질생성²⁰⁾을 일으킨다. 또한, 근위노세관에 직접적으로 산화적 DNA손상을 일으켜서 신장암을 일으킨다.²¹⁾ 또한 KBrO₃는 흰쥐의 콩팥²²⁾에서도 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8OH2'dG)을 생성시킨다. 또한 사람 fibroblast²³⁾ 및 흰쥐 kidney epithelial cells²⁴⁾에서 comet assay에 의한 DNA손상반응을 나타내었다고 보고되어 있다. 한편, glutathione과 같은 항산화제가 KBrO₃ 유도 DNA strand break를 억제하였다는 보고도 있다.²⁴⁾ 그러므로 본 시험의 조건 하에서 KBrO₃ 유도 DNA 손상을 억제하는 galangin, 양강추출물, vit-E 등 항산화제들은 KBrO₃에 의해 생성된 각종 ROS들을 소거하고 산화적인 유전물질 손상에 대하여 항산화적인 작용을 하고 있다고 판단된다.

KBrO₃는 산화적 독성기전으로 세포내에서 chromosome aberration을 일으키고 소핵을 생성시키는 물질로서 발암성을 나타내는 물질이기도 하다.²⁵⁾ 흰쥐에서도 소핵생성의 증가가 관찰되었다.²⁶⁾ 흰쥐에서 KBrO₃에 유도된 소핵이 vitamin C, glutathione, cysteine 등에 의해 감소되었음을 보고된 바 있다.²⁷⁾ 본 연구에서도 vitamin-E는 물론이고 galangin, 양강추출물이

KBrO₃와 같은 강력한 ROS 유발물질에 의한 염색체 수준에서의 손상에 대해서도 억제효과를 잘 나타내었다. 따라서 galangin의 KBrO₃ 유도 산화적스트레스에 대한 항산화적 유전독성억제효과는 galangin이 flavonoid 화합물이기 때문에 폴리페놀성 물질의 일반적인 항산화작용을 나타내는 것으로 판단된다.²⁸⁻³⁰⁾ 결과적으로 양강추출물과 함유주성분인 galangin은 KBrO₃ 유도 산화적 독성을 경감시키는 것으로 보아서 OH와 O₂⁻ 등을 소거함으로써 8-OH2'dG 생성억제, DNA single strand break 생성억제, 염색체 수준에서의 손상억제를 나타내는 것으로 보인다.

따라서 galangin은 산화적 DNA손상이나 염색체 손상 억제를 통한 항노화 및 암예방제로서의 가능성이 있다고 판단된다. 그리고 양강(*Alpinia officinarum*) 근경의 70% 에틸알콜 추출물 중에 galangin이 다량 함유되어 있으므로 양강은 산화성 유전독성의 화학예방요법제의 주요 식물자원으로서 응용가능성이 크다고 판단된다.

감사의 말씀

본 연구논문은 강원대학교 종합약학연구소의 장비지원에 의해 얻은 결과이므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) 소학관편 : 중약대사전 제2권, 상해과학기술출판사, 상해 p 782 (1985).
- 2) Ames, B. N. : Endogenous DNA damage as related to cancer and aging. *Mutation Res.* **214**, 41 (1989).
- 3) Ames, B. N. : Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radical and degenerative diseases. *Science* **221**, 1256 (1983).
- 4) 김수희, 허문영 : H₂O₂ 유도 8-OH2'dG 생성 및 DNA single strand break에 미치는 Galangin의 억제효과. *약학회지* **54**, 32 (2010).
- 5) Lee, S. C., Shin, K. S. and Heo, M. Y. : Protection of ROS induced cytotoxicity and DNA damage by the extract of *Alpinia officinarum*. *J. Food Hygiene and Safety* **17**, 106 (2002).
- 6) Park, J. W., Cundy, K. C. and Ames, B. N. : Detection of DNA adducts high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Carcinogenesis* **10**, 827 (1989).
- 7) Shigenaga, M. K., Park, J. W., Cundy, K. C., Gimeno, C. J. and Ames, B. N. : In vivo oxidative DNA damage : Measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA and urine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Methods Enzymol.* **186**, 521 (1990).
- 8) Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R. and Schneider, E. L. : A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research* **175**, 184

- (1988).
- 9) Olive, P. L., Banath, R. E. and Durand, R. E. : Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the comet assay. *Radiat. Res.* **122**, 86 (1990).
 - 10) Hayashi, M., Morita, T., Kodama, T., Sofuni, T. and Ishidate, Jr. M. : The micronucleus assay with peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutation Res.* **278**, 209 (1990).
 - 11) Afolayan, A. J. and Meyer, J. J. : The antimicrobial activity of 3,5,7- tri-hydroxyflavone isolated from the shoots of *Helichrysu aureonitens*. *J. Ethnopharmacol.* **57**(3), 177 (1997).
 - 12) Meyer, J. J., Afolayan, A. J., Taylor, M. B. and Erasmus, D. : Antiviral activity of galangin isolated from the aerial parts of *Helichrysum aureonitens*. *J. Ethnopharmacol.* **56**(2), 165 (1997).
 - 13) Matsuda, H., Ando, S., Kato, T., Morikawa, T. and Yoshikawa, M. : Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. *Bioorg Med. Chem.* **14**(1), 138 (2006).
 - 14) De Souza, R. F. and De Giovanni, W. F. : Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. *Redox Rep.* **9**(2), 97 (2004).
 - 15) Rapta, P., Misik, V., Stasko A. and Vrabel I. : Redox intermediates of flavonoids and caffeic acid esters from propolis: an EPR spectroscopy and cyclic voltammetry study. *Free Radic Biol. Med.* **18**(5), 901 (1995).
 - 16) Myara, I., Pico, I., Védie, B. and Moatti, N. : A method to screen for the antioxidant effect of compounds on low-density lipoprotein(LDL) : illustration with flavonoids. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **30**(2), 69 (1993).
 - 17) Cholbi, M. R., Paya, M. and Alcaraz, M. J. : Inhibitory effects of phenolic compounds on CCl₄-induced microsomal lipid peroxidation. *Experientia* **47**(2), 195 (1991).
 - 18) 이승철, 허찬, 이승현, 김현표, 허문영 : 야채 및 과일추출물의 항산화작용과 산화적 염색체손상에 대한 억제효과. *약학회지* **48**(2), 111 (2004).
 - 19) Sai, K., Hayashi, M., Takagi, A., Hasegawa, R., Sofuni, T. and Kurokawa, Y. Effects of antioxidants on induction of micronuclei in rat peripheral blood reticulocytes by potassium bromate. *Mutat. Res.* **269**(1), 113 (1992).
 - 20) Kurokawa, Y., Matsushima, Y., Takamura, N., Imazawa, T. and Hayashi, Y. : Relationship between the duration of treatment and the incidence of renal cell tumors in male F344 rats administered potassium bromate. *Jpn. J. Cancer Res.* **78**(4), 358 (1987).
 - 21) Sai, K., Tyson, C. A., Thomas, D. W., Dabbs, J. E., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y. : Oxidative DNA damage induced by potassium bromate in isolated rat renal proximal tubules and renal nuclei. *Cancer Lett.* **87**(1), 1 (1994).
 - 22) Umemura, T., Takagi, A., Sai, K., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y. : Oxidative DNA damage and cell proliferation in kidneys of male and female rats during 13-weeks exposure to potassium bromate (KBrO₃). *Arch. Toxicol.* **72**(5), 264 (1988).
 - 23) Mosesso, P., Penna, S., Pepe, G., Lorenti-Garcia, C. and Palitti, F. : Potassium bromate but not X-rays cause unexpectedly elevated levels of DNA breakage similar to those induced by ultraviolet light in Cockayne syndrome (CS-B) fibroblasts. *Cytogenet. Genome Res.* **104**(1-4), 78 (2004).
 - 24) Parsons, J. L. and Chipman, J. K. : The role of glutathione in DNA damage by potassium bromate *in vitro*. *Mutagenesis* **15**(4), 311 (2000).
 - 25) Sai, K., Takagi, A., Umemura, T., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y. : Relation of 8-hydroxydeoxyguanosine formation in rat kidney to lipid peroxidation, glutathione level and relative organ weight after a single administration of potassium bromate. *Jpn. J. Cancer Res.* **82**(2), 165 (1991).
 - 26) Awogi, T., Murata, K., Uejima, M., Kuwahara, T., Asanami, S., Shimono, K. and Morita, T. : Induction of micronucleated reticulocytes by potassium bromate and potassium chromate in CD-1 male mice. *Mutat. Res.* **278**(2-3), 181 (1992).
 - 27) Sai, K., Hayashi, M., Takagi, A., Hasegawa, R., Sofuni, T. and Kurokawa, Y. : Effects of antioxidants on induction of micronuclei in rat peripheral blood reticulocytes by potassium bromate. *Mutat. Res.* **269**(1), 113 (1992).
 - 28) Hiramoto, K., Ojima, N., Sako, K. and Kikugawa, K. : Effect of plant phenolics on the formation of the spin-adduct of hydroxyl radical and the DNA strand breaking by hydroxyl radical. *Biol. Pharm. Bull.* **19**, 558 (1996).
 - 29) Noda, Y., Anzai, K., Mori, A., Kohno, M., Shinme, M. and Packer, L. : Hydroxyl and superoxide anion radical scavenging activities of natural source antioxidants using the computerized JES-FR30 ESR spectrometer system. *Biochem. Mol. Biol. Int.* **42**(1), 35 (1997).
 - 30) Afanas'ev, I. B. and Polozova, N. I. : One electron oxidation of p- and o-dihydroxy benzenes by oxygen radical anion in aprotic medium. *Zh. Organ. Khim.* **26**, 1013 (1978).