

S5

감귤류 플라보노이드의 생리기능 활성화

차 재 영

동아대학교 생명자원과학부

1. 서론

감귤은 한방약이나 생약의 원료로 사용되고 있듯이 기능성이나 약효 성분이 많이 함유되어 있는 과일이다. 감귤류는 최근 들어 우리나라에서 가장 많이 생산되는 과일로 연간 약 64만톤(1999년 통계)이 생산되어 대부분 소비되고 있다(1). 감귤 과피는 진피, 귤피, 지실 등의 이름으로 이전부터 한방처방의 원료인 동시에 비타민, 식이섬유, 유기산 및 유리당 등의 영양성분 공급원으로 건강식품의 소재로서 그 소비량도 증가 추세에 있다. 이러한 감귤류에는 플라보노이드류, 카로티노이드류, 쿠마린류, 페닐프로파노이드류, 리모노이드류 등의 다양한 성분이 함유되어 있는 것이 특징이며, 이들의 생리기능활성에 대한 평가연구도 활발히 진행되고 있다(2,3).

특히 플라보노이드는 현재까지 약 4,000종 이상이 알려져 있으며, 감귤류에도 60여종이 알려져 있다. 플라보노이드는 담황색 또는 노란색을 띠는 색소화합물로서 식물 중에는 대부분 당과 결합된 배당체(glycoside) 형태로 존재하며, 하루 한 사람 섭취량이 약 23 mg ~ 1 g 정도로 다양하게 추정되고 있으며 특이한 부작용이 없는 것으로 알려져 있다(4). 감귤류에 유래하는 주요 플라보노이드 화합물은 naringin과 hesperidin 그리고 이들의 aglycone 형태인 naringenin과 hesperetin이며, 그 밖에도 rutin, deosmine, nobiletin, tangeretin 등이 있다. 이처럼 감귤류에는 많은 화합물이 발견되어 이들의 기능성에 대한 평가로서 항산화 작용, 순환기계 질환의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하 작용, 면역증강 작용, 모세혈관 강화작용 등이 보고된 바 있다(5,6). 일상 생활에서 손쉽게 얻을 수 있는 감귤류에서 건강증진 효과를 나타내는 성분을 분리해내고, 식품의 제 3차 기능으로서의 역할에 관한 연구는 감귤류의 이용에 관한 재평가의 의미에서 매우 흥미 있을 것으로 기대된다. 따라서, 감귤류의 유효성에 관한 기능성 연구의 일환으로서

감귤류 플라보노이드의 생리활성에 관련된 연구 현황을 본 연구자의 *in vivo* 및 *in vitro* 실험을 통한 연구결과를 중심으로 소개하고자 한다.

2. 본론

(1) 감귤류의 생체조절 기능성분

감귤류는 당류, 구연산, 향기성분, 비타민, 미네랄과 같은 맛에 관련된 성분이나 영양소 외에 생체의 조절기능을 갖는 다양한 성분을 함유해서 주목되고 있다. 감귤류에 함유되어 있으며 생리활성 연구의 면으로부터 중요한 화합물로서는 flavonoid, monoterpene, triterpene, cumarin, carotenoide, phenylpropide, akulidone 등이 있다. 이 중에서 akulidone과 limonoide는 사실상 감귤류가 속하는 밀감과 식물에 특유한 화합물이다. 또한, flavonoid 및 cumaline류에는 밀감과 식물특유로 다른 식물에서는 보여지지 않는 특이적인 화학구조를 가진 화합물이 많다. 현재까지 감귤류로부터 약 60여종의 플라보노이드가 분리되었으며, 새로운 생리활성 성분이 계속 발견되고 있다. 감귤류에는 1) rutin 및 deosmine과 같은 일반적인 플라보노이드, 2) hesperidin 및 naringin과 같은 감귤류 특유의 플라보노이드, 3) 이 외의 야채, 과일에서는 보여지지 않는 tangeretin, nobiletin과 같은 플라보노이드로 분류된다. 감귤류 플라보노이드의 기능성에 관해서는 제 2타입을 대상으로 연구가 활발하게 이루어져 많은 연구결과가 얻어졌다. 최근에는 감귤류 고유의 플라보노이드 tangeretin에는 암세포의 침윤 및 전이 방지 효과, 암세포의 아포토시스 유도효과 및 백혈병 세포의 분화 촉진 작용이 강한 것으로 밝혀졌다(7,8).

(2) 감귤류 플라보노이드의 임상적 이용

밀감은 생식과 주스로 즐겨먹는 과일중의 하나이며, 과피는 건조하여 “진피”로서 한방약으로 처방되고 있다. 이러한 감귤류에는 flavanone 유도체가 많이 함유되어 있으며, 그 대표적인 것이 naringin, hesperidin 등의 배당체 형태로 대부분 존재하고 있다. 이들 배당체는 오렌지와 레몬 등의 감귤류, 특히 미숙과의 과피에 많이 들어있다. 진피에는 혈관의 수축이완, 혈압상승 억제, 기관지 근육 이완 등의 작용이 있는 시네프린이 함유되어 있다. 감귤류는 세포의 기능장애나 돌연변이를 일으키는 활성산소의 작용을 저지하는 비타민과 플라보노이드와 같은 항산화성분을 함유하고 있어 식품의 산화방지와 생체의 노화억제 기능이 주목받고 있다. 또한 감

귤 과피에 함유된 리모노이드는 감귤류 특유의 쓴맛을 내는 성분으로 암세포 전이 억제와 혈중 콜레스테롤 감소효과가 있는 것으로 확인되었다.

① 혈중 콜레스테롤 농도 상승억제 작용

지질대사에 의한 고지혈증은 동맥경화증 유발의 3대 위험인자 중의 하나로서 혈청 콜레스테롤 농도와 관동맥경화성 질환과의 사이에 높은 정의 상관관계가 보고되어 있다. 한편, 식사성 플라보노이드의 섭취량의 증가에 동반하여 혈청 콜레스테롤 농도가 감소하고 또한 관동맥질환의 위험인자가 감소하는 보고도 있다. 따라서, 감귤류 플라보노이드가 지질대사에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하기 위하여 수컷 흰쥐에 콜레스테롤과 함께 hesperidin, naringin 및 이들의 aglycone 형태인 hesperetin, naringenin을 1% 수준으로 식이 중에 각각 첨가하여 3주간 섭취시켰다. 콜레스테롤 섭취에 의한 혈청 콜레스테롤 농도의 현저한 증가는 이들 플라보노이드의 동시첨가에 의해 현저히 감소하였다. 한편 HDL-콜레스테롤 농도는 유의적으로 증가하고 동시에 동맥경화 지수는 플라보노이드 식이에서 현저히 저하하였다(9). 따라서, 감귤류 유래의 플라보노이드의 섭취에 의해서 동맥경화와 같은 혈관계 질환의 예방과 치료에 유효할 것으로 시사되었다. 감귤류 플라보노이드에 의한 혈중 콜레스테롤 농도의 저하 메카니즘으로서 1) 간장에서 콜레스테롤 에스테르 합성의 조절효소인 Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase (ACAT)의 *in vivo* 및 *in vitro* 실험계에서의 활성저해에 의한 리포단백질-콜레스테롤 생성 및 분비저하, 2) 소장에서 ACAT 활성저해에 의한 외인성 콜레스테롤 흡수억제, 3) 콜레스테롤 이화대사 산물인 담즙산의 배설촉진, 4) 소장에서 콜레스테롤 흡수에 관여하는 담즙산 미셀중의 용해성 저해 및 분변 중의 배설증가가 시사되었다(14). 한편, 햄스터에 naringenin 및 hesperetin을 1% 수준으로 식이중에 첨가하여 3주간 섭취시킨 실험에서는 혈중 중성지질의 저하효과가 있었으나, 혈중 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤에는 영향을 미치지 못하였다(15). 감귤 플라보노이드의 생체조절 기능으로서 혈중 콜레스테롤 및 중성지질 감소효과가 인정되어 혈관계질환의 예방 및 치료에 유용할 것으로 사료되었다.

② 실험적 유발 지방간 억제작용

지방간은 간장에 중성지질이 이상적으로 축적하는 지질대사의 이상에 의한 질환

이다. 피리미딘 염기의 중간대사 산물인 오로트산 (Orotic acid)의 과잉섭취 (식이 중 1%)에 의해 간장에서 중성지질 합성의 증가 및 혈청 지질의 분비 저해에 의해 지방간이 유발되는 것으로 알려져 있다(11). 이러한 오로트산 유발 지방간에 대한 감귤류 플라보노이드의 한종류인 hesperetin의 개선작용에 대하여 검토하였다. 성장기 SD계 숫컷 흰쥐에 표준식 (대조군), 오로트산 1% 첨가식, Hesperetin 1% 첨가식 및 오로트산 1% +Hesperetin 1% 첨가식의 4군으로 나누고 10 일간 사육하였다. 그 결과, 오로트산 식에서 간장 중성지질 농도는 표준식에 비하여 현저히 증가하여 지방간 유발이 확인되었다. 오로트산에 의해 유발된 지방간은 hesperetin 동시 투여에 의하여 간장 중성지질 농도가 현저히 감소하여 지방간 개선작용이 나타났다(12). 이러한 오로트산에 의한 지방간 유발에는 특히 간장의 중성지질 합성의 조절효소로 알려진 phosphatidate phosphohydrolase (PAP)와 diacylglycerol acyltransferase (DGAT) 활성이 증가되는데(12), hesperetin의 동시첨가에 의해 PAP 37% 및 DGAT 49% 활성이 저하됨으로서 지방간이 개선되었다. 또한 hesperetin은 PAP 활성에 대해 *in vitro* 실험계에서도 첨가농도 의존적으로 억제시켰다(18). Hesperetin은 오로트산 유발 실험적 지방간에서 간장의 중성지질 합성 효소를 저해하여 지방간의 개선효과를 나타내었다.

③ 사람 간종양 HepG2 세포의 증식억제 작용 및 지질 저하 작용

사람 간종양 유래의 배양주인 HepG2 세포의 증식에 미치는 감귤류 플라보노이드의 영향을 세포독성 실험 (MTT 측정실험)을 통하여 조사하였다. 감귤류 플라보노이드인 hesperidin, hesperetin, naringin 및 naringenin을 dimethyl sulfoxide에 최종농도가 10^{-5} ~ 10^{-3} 되도록 용해시켜 배지 중에 첨가하여 24 시간 배양한 후 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide; thiazolyl blue) 방법으로 세포증식을 검토하였다(14). 살아있는 세포내 미토콘드리아 내막에 존재하며 호흡쇄에 관여하는 효소인 dehydrogenase에 의해 MTT가 분해되어 생성되어지는 MTT formazan량은 대사적으로 활성이 있는 살아있는 세포 수에 비례하는 것으로 알려져 세포의 독성실험에 많이 이용되는 방법이다. Hesperetin과 naringenin 10^{-3} M 농도에서 간종양 세포주인 HepG2 세포의 증식이 현저히 억제되었으나, 배당체 형태인 hesperidin과 naringin에 의한 현저한 영향은 없었다. 한편, 감귤류의 배당체 형태인 naringin과 hesperidin의 지질농도에 미치는 연구의 일

환으로서 간배양 HepG2 세포의 배양에 0.5 및 5.0 mg/mL 농도로 첨가하여 24시간 배양한 후 세포내의 콜레스테롤 및 중성지질 농도를 측정하였다. 세포내 콜레스테롤 농도는 hesperidin의 첨가농도 의존적으로 현저히 감소하였으나, naringin 첨가에 의한 영향은 없었다. 세포내 중성지질 농도도 hesperidin의 첨가농도 의존적으로 감소하였으나, naringin 첨가에 의해서는 낮은 농도에서만 유의한 감소가 인정되었다(15).

④ 감귤 플라보노이드의 과산화지질 억제작용

식물성 성분의 생리활성 인자를 탐색할 목적으로 감귤류 유래의 플라보노이드인 hesperetin, hesperidin, naringenin 및 naringin의 항산화 효과를 DPPH법, thiocyanate법 및 microsome 생체막 과산화지질 생성 정도를 TBARS법으로 비교하였다. DPPH 측정법에 의한 수소공여능은 hesperetin > naringenin > hesperidin > naringin 순으로 나타나, aglycone 플라보노이드에서 비교적 강한 활성을 보였다(16). Linoleic acid를 이용한 thiocyanate 측정법과 TBARS 측정법 및 microsome 생체막 지질 과산화물 측정법에서도 hesperetin 첨가구에서 가장 강한 항산화 활성을 나타내었다. 이러한 항산화 활성은 감귤류 플라보노이드 중에서 hesperetin에서 가장 높았으며, aglycone 형태인 hesperetin과 naringenin이 그들의 glycoside 형태인 hesperidin과 naringin 보다 높았다.

3. 결론

이상의 결과에서 감귤류 유래 플라보노이드는 혈중 콜레스테롤 및 중성지질 억제작용에 의한 혈관계 질환 개선효과, 지방간을 비롯한 간질환 개선효과, 암세포 증식억제에 의한 항암작용, 질병의 원인이 되는 생체내 산화작용을 억제하는 항산화 작용 등 건강에 관련된 다양한 생리기능 활성이 존재하는 것으로 나타나 기능성 성분의 연구로 일정한 효과를 얻었다. 우리나라에서 생산되고 있는 과일 중에서 생산량이 제일 많은 감귤은 비과식 비율이 거의 절반을 차지하므로 생체에서 생리활성을 가지는 성분의 추출, 분리, 정제를 통한 고부가가치의 기능성식품 및 의약품 개발은 활기를 띠어 국내특허 및 국제특허가 1997년 이후 매년 각각 약 60건 및 15건씩 출원중에 있다.

감귤 가공시 부산물로 생성되는 과피는 일부만 한약재로 사용되어 왔고 최근 기

능성음료 등에 사용하고자 하는 시도가 있지만 대부분의 과피는 과실 가공시 폐기물로 처리되고 있는 실정이다. 따라서 이러한 감귤류 유래의 생리활성 성분의 연구목적은 건강증진 효과가 높은 식품의 판매촉진과, 기능성 성분을 보다 정제하여 건강증진 효과를 높이는 식품의 개발, 또한 식품 첨가물의 신규 수요를 증대시키는데 있다.

4. 참고문헌

1. 작물통계 연도(농림부) (1999)
2. Kuhnau J, World Rev. Nutr. Diet, 24, 117 (1976)
3. Hertog MGL, et al., The Lancet, 342, 1007 (1993)
4. Hertog MGL, et al., J. Agric. Food Chem., 40, 2379 (1992)
5. Ameer B, et al., Clin. Pharmacol. Ther., 57, 186 (1995)
6. 차재영 외, 생명과학회지, 9, 389 (1999)
7. Bracke ME, et al., Food Technology, 48, 121 (1994)
8. Hirano T, et al. Br. J. Cancer, 72, 1380 (1995)
9. Cha JY, et al., 49th Japan Nutr. Food Sci. Soc. p. 21 (1996)
10. Cha JY, et al., Inter. J. Oriental Med., 1(1) 28 (2000)
11. Cha JY, et al., Biosci. Biotechnol. Biochem., 62, 508 (1998)
12. Cha JY, et al., Plant Foods Human Nutr., 56(2) (2001)
13. 차재영 외, 한국농화학회지, 40(6), 577 (1997)
14. Mosmann T, et al., Immunol. Methods, 65, 55 (1983)
15. 차재영 외, 생명과학회지, 9(4), 382 (1999)
16. 차재영 외, 한국농산물저장유통학회지, 7(2), 211 (2000)