

In Vitro 에서 Phosphatidate Phosphohydrolase 활성과 HepG2 세포증식에 미치는 Hesperidine, Naringin 및 그 Aglycone Flavonoid의 영향

車載英 · 조영수*

鹿兒島大學 大學院連合農學研究科, *동아대학교 생명자원과학대학 농화학과

초 록 : 감귤류에 포함되어있는 성분중, 생리활성물질로 거론되어지고 있는 citrus flavonoid 즉, hesperidin, hesperetin, naringin 및 naringenin 4종류를 가지고 간장triglyceride합성의 율속효소로 알려져 있는 phosphatidate phosphohydrolase 활성에 대하여 *in vitro* 계에 미치는 영향과 이들 flavonoid가 HepG2 세포의 생존율 및 증식에 미치는 영향에 대해서도 함께 검토하였다. 그 결과 본 실험에 사용된 모든 flavonoid는 10^{-4} M 농도까지는 세포생존율 및 증식이 최고에 도달하였으나, 10^{-3} M 농도에서 aglycone flavonoid는 현저한 저해효과를 나타냈다. naringin 및 hesperidin의 glycoside flavonoid는 첨가한 모든 농도에서 PAP활성을 촉진시키는 경향을 나타내었다. 그러나, aglycone flavonoid인 hesperetin은 PAP활성을 농도 의존적으로 저해하였으며, naringenin은 10^{-2} M 농도에서 강한 저해효과를 나타내었다. 이러한 결과로미루어 볼때 aglycone flavonoid가 생체내에서 세포 생존율, 증식 및 지질대사에 강한 영향을 미칠 것으로 생각되어진다.(1997년 8월 28일 접수, 1997년 9월 30일 수리)

서 론

식생활의 변화에 의한 고지방식이 등의 과잉섭취가 장기화되면 생체 내에서 지질대사이상을 일으켜 허혈성질환의 원인이 되는 것으로 생각되어진다. 허혈성질환으로 되는 원인에 대해서 역학적, 병리학적, 생화학적 연구 등에 의해서 많은 위험인자가 지적되고 있다.^{1,2)} 최근에는 고중성지혈증과 저HDL-콜레스테롤 혈중도 이러한 질환의 위험인자로서 주목받게 되어, 유럽과 미국에서 새로운 임상 지침이 설정되고 있다.^{3,4)}

일상적으로 섭취하는 식품에 고중성지혈증 및 저HDL-콜레스테롤 혈중을 개선할 수 있는 유효성분이 존재한다면, 동맥경화증같은 질환의 예방에 도움이될것으로 생각되어지며, 그중 일상적으로 쉽게 섭취할 수 있는 감귤류에 함유되어있는 생리활성물질이라 일컫는 citrus flavonoid가 이러한 효과가 있으면 의의있을 것으로 생각되어 지는 한편, 천연 flavonoid의 섭취가(1 g/day) 허혈성심질환에 의한 사망률과 심근경색의 발증을 사이에 역상관을 나타내는 역학적 조사보고가 있어서, 그러한 유효성이 더욱 시사 되어진다.⁵⁾ 현재까지 천연에 존재하는 flavonoid가 약 3,000종 이상이 알려져 있다.⁶⁾ 감귤류 과일중에도 flavonone 유도체인 hesperidin, naringin 및 이들의 aglycone flavonoid가 비교적 다량으로 함유되어 있는 것으로 알려져 있다.^{7,8)} Citrus flavonoid 에 의한 혈청 총콜레스테롤 농도의 저하효과는 많이 보고되어 있으나,⁹⁻¹²⁾ triglyceride 대사에 미치는 영향에 대해서는 연구가 그다지 되어있지 않다.^{13,14)}

따라서, 본 연구에서는 중성지질대사기작 중 간장 triglyceride합성의 율속단계를 촉매하는 효소로 알려져 있는 phosphatidate phosphohydrolase(PAP, EC3.1.3.3) 활성측정이 혈청triglyceride농도의 측정보다 좋은 지표가 되는 것으로 알려져,¹⁵⁻¹⁹⁾ *in vitro* 계 microsomal PAP 활성에 미치는 영향에 대해서 검토하였으며, 사람 간세포 유래의 HepG2 세포의 증식에 미치는 영향에 대해서도 함께 검토하였다.

재료 및 방법

세포배양

사람 간세포 유래의 HepG2 세포를 10%(v/v) fetal bovine serum(FBS), 0.1 mg/ml penicillin-G, 0.01 mg/ml streptomycin을 함유한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM) 배양액을 이용하여 37°C, 5% CO₂ 의 조건 하에서 CO₂ incubater에서 배양하였다. 세포생육이 세포내 80-90% 될 때 trypsin을 사용해서 세포를 수거하여 subculture를 하였다.

세포의 성장과 생존율

본 실험에 사용한 flavonoid (Sigma Chemical Co.)(Fig.1 ; hesperidin, hesperetin, naringin 및 naringenin)는 DMSO (dimethyl sulfoxide)에 용해해서, 10^{-5} , 10^{-4} 및 10^{-3} M 농도로 배지에 첨가하였다. 15×10^4 개 세포를 포함한 배양현탁액 0.1 ml를 배양용기에 접종하여 24시간후, 배양액을 제거

찾는말 : citrus flavonoids, triglyceride, phosphatidate phosphohydrolase, proliferation, HepG2 Cell

*연락처

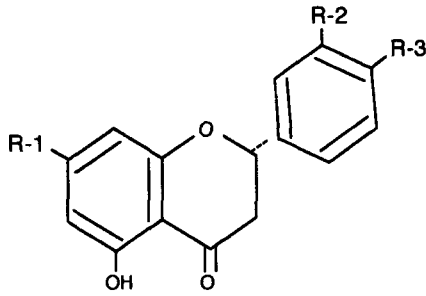


Fig. 1. The chemical structure properties of the citrus flavonoids.

Compounds	R-1	R-2	R-3
Naringin	O-Neohesperidos	H	OH
Naringenin	OH	H	OH
Hesperidin	O-Rutinos	OH	O-CH ₃
Hesperetin	OH	OH	O-CH ₃

하고 DMEM(FBS free)로 세포를 씻어 주었다. Flavonoid를 각 농도별로 첨가한 DMEM 배지에서 24시간 배양한 후 세포증식에 대하여 조사하였다. 대조구는 DMSO(최종농도 2%)만 첨가하여 배양 하였다. 생세포수는 hemacytometer로 측정하였다. 세포성장측정은 세포독성실험(MTT : 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide; thiazolyl blue)에 의해 검토하였다.²⁰⁾ 즉, 세포 배양후 회수 3시간 전에 MTT 용액(Sigma Chemical Co.) (5 mg/ml 인산완충액)을 각 well에 0.02 ml씩 첨가하여 배양하였다. 그 후 반응정지액(DMSO : ethanol = 1 : 1) 0.15 ml를 첨가하여 MTT formazan crystal을 용해시킨후 570 nm에서 흡광도를 측정하여 세포성장율을 계산하였다.

Phosphatidate phosphohydrolase 활성측정

PAP활성은 Walton 등의 방법²¹⁾으로 측정하였다. 즉, 0.05M Tris-HCl(pH7.0), 1mM phosphatidate, 1mM phosphatidyl-choline을 포함한 반응액에 효소액(50-100 µg 단백질함유)을 첨가하여 반응을 시켰다. Flavonoid는 10⁻⁶-10⁻¹ M농도로 DMSO에 용해시켜 반응액에 첨가하였다. 효소반응은 37°C에서 15분간 시킨후, 0.375 M H₂SO₄ 용액으로 반응을 정지시키고 1.25% ascorbic acid, 0.32% ammonium molybdate, 10% SDS용액을 가한후 45°C에서 20분간 발색시켜 820 nm에서 흡광도를 측정하였다.²²⁾

통계처리

결과는 일원배치분산분석을 실시하여 유의차(p<0.05) 검정은 Duncan의 방법²³⁾을 사용하였다.

결과 및 고찰

세포증식에 미치는 flavonoid의 영향

HepG2 세포의 증식에 미치는 flavonoid의 영향은 최종농도 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ M(DMSO 2%)의 조건하에서 관찰하였다. 본 실험에 사용한 세포는 사람 간중양 유래의 세포로서 지

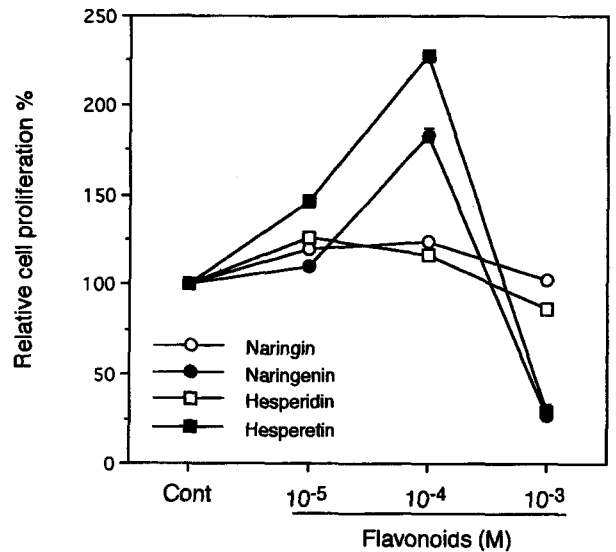


Fig. 2. Effect of flavonoids on the cell proliferation of HepG2 cells. HepG2 cells were cultured with varying concentrations of flavonoids for 24 hr and then growth inhibitory effect was monitored by MTT method. HepG2 cells growth is expressed as an optical density (570 nm) of MTT formazan with three replication assays.

질대사에 있어서 정상적인 간세포와 거의 동일한 성질을 갖추고 있어서 현재 다방면으로 실험에 이용되고 있다.²⁴⁻²⁷⁾ 생세포내 mitochondria 내막중의 호흡쇄에 관여하는 효소인 dehydrogenase에 의하여 MTT가 분해되므로서 생성되는 MTT formazan량은 대사적으로 활성이 있는 생세포수와 거의 비례하는 것으로 알려져 있다.^{20,28)} 본 실험에서도 MTT formazan을 solvent로 용해시켜 그 흡광도를 측정하는 원리를 이용하여 MTT를 측정한 결과, glycone flavonoid인 hesperidin과 naringin은 세포증식에 대하여 현저한 영향은 미치지 못하였다.(Fig.2) 그러나, 이들의 aglycone flavonoid인 hesperetin과 naringenin은 10⁻⁴ M 농도에서는 현저한 증식효과를 나타내었으나, 10⁻³ M 농도에서는 현저한 증식감소가 나타나 mitochondria 내막중의 효소활성에 영향을 미치는 것으로 보여진다. 따라서 본 실험의 조건하에서는 aglycone flavonoid가 세포의 성장에 더욱 영향을 미친 것으로 나타났다.

생세포수에 미치는 flavonoid의 영향

생세포수에는 hesperidin 및 hesperetin에 의한 현저한 영향은 관찰되지 않았다.(Fig.3) Naringin은 10⁻⁵ M 농도 이상에는 대조구의 약 40% 감소를 나타내었고, Naringenin은 10⁻³ M 농도에서 대조구의 약 3% 수준을 나타내었다. Naringenin에 의한 이러한 결과는 MTT 세포독성 실험의 결과도 일치하고 있으나, hesperetin에 의해서는 동일한 결과가 인정되지 않아서 flavonoid의 종류에 의한 영향이 큰 것으로 생각되어 진다.

PAP 활성에 미치는 flavonoid의 영향

Triglyceride는 glycerol-3-phosphate 경로에서 합성되어 지는데, PAP가 간장triglyceride합성 조절에 있어서 중요한

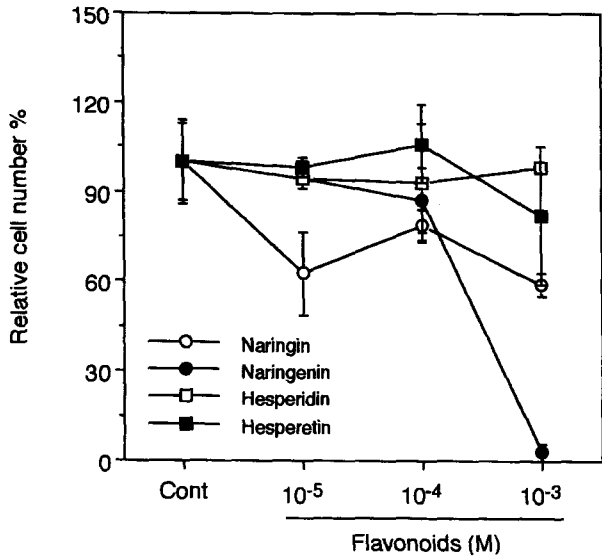


Fig. 3. Effect of flavonoids on the cell number of HepG2 cells. HepG2 cells were cultured with varying concentrations of flavonoids for 24 hr.

역할을 하는 효소로 최근에 많이 보고되고 있다.¹⁶⁻¹⁹⁾ 이것은 triglyceride합성에 관련되어 있는 다른 효소의 변화보다도 PAP활성이 더욱 급격하게 변하기 때문인 것으로 생각되어진다. 또한 PAP활성측정이 혈청triglyceride농도의 측정정보보다 좋은 지표로 이용되고 있다.¹⁵⁻¹⁹⁾ 따라서 본 실험에서는 성장기 흰쥐의 간장으로부터 분리한 microsomal fraction을 효소원으로 PAP활성에 미치는 flavonoid의 영향에 대하여 검토하였다(Fig.4). Naringin 및 hesperidin의 glycoside flavonoid는 첨가한 모든 농도에서 PAP활성을 증가시키는 경향을 나타내었다. 그러나, aglycone flavonoid인 naringenin 및 hesperetin 은 10⁻⁶~10⁻⁴M 농도에서는 현저한 변화가 나타나지 않았으나, 10⁻³M 이상의 농도에서는 유의적인 저하를 나타내었다. 특히 hesperetin 10⁻³M 이상의 농도에서는 PAP 활성이 현저하게 저하를 나타낸 반면, hesperidin은 같은 농도에서 증가현상을 나타냈다(Fig.4). Ameer^등²⁹⁾은 naringin과 hesperidin의 glycoside flavonoid를 함유한 주스를 25세의 남성에게 (11 mg/kg body

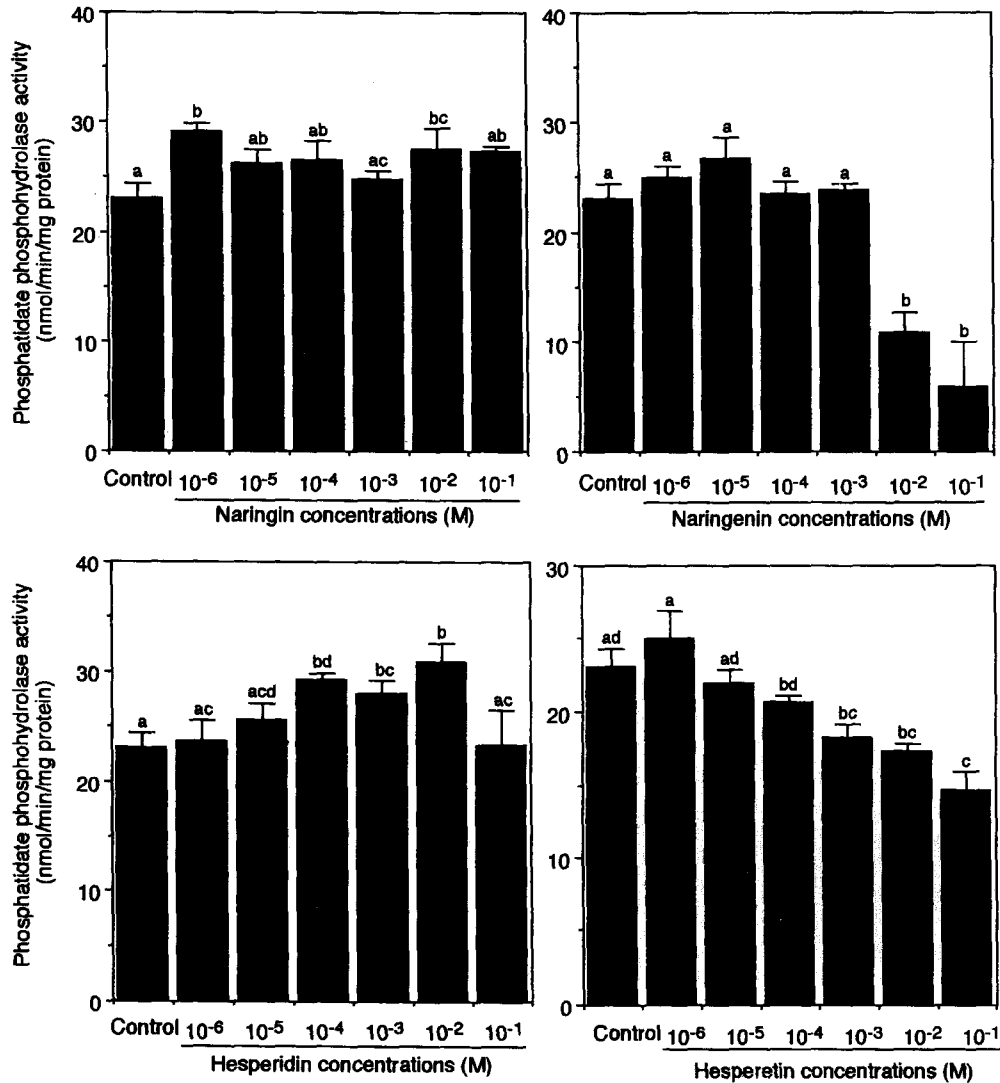


Fig. 4. Effect of flavonoids on the activity of phosphatidate phosphohydrolase *in vitro* in the hepatic microsomal fraction of rats. Phosphatidate phosphohydrolase activity was measured in the 10⁻⁶-10⁻¹M concentration of each flavonoid. Each value represents mean±SEM of 5 samples. Values with different letters are significant at p<0.05.

weight/day) 30일간 음용하게 한 후 혈액과 뇨를 채취하여 분석한 결과, 이들 둘 glycoside flavonoid는 검출되지 않는 반면에 그들의 aglycone flavonoid인 naringenin과 hesperetin은 상당량 검출되었다. 따라서 본 실험의 결과에서 보여 주듯이 비교적 고농도의 aglycone flavonoid는 생체내에서도 지질대사에 상당한 영향을 미칠 것으로 생각되어진다. Kawaguchi 등은¹³⁾ 흰쥐에 5-10% hesperidin을 투여한 결과 농도에 의존적으로 혈청 triglyceride농도가 감소하였다고 보고하고 있어 이들의 결과를 한층 지지해 주는 것으로 생각된다. 한편, hesperetin에 의해서 PAP활성이 가장 현저한 영향을 받은 것으로 나타나 preincubation의 영향에 대해서 검토하였다(Fig.5). 그 결과, preincubation 1시간까지는 hesperetin 첨가에 의하여control보다 저하하였으나, 2시간 이후에는 증가하는 경향이였다. Unno등은³⁰⁾ 흰쥐를 12시간 질식시킨후 2 ml 음료에 (-)epigallocatechin gallate를 50 mg 용해시켜 경구투여하여 혈액을 경시적으로 채취하여 분석한 결과, 투여후 1시간 경과 후에 혈액중 (-)epigallocatechin gallate량이 최대치(200 ng/ml)를 나타내었으나, 2시간 이후에는 거의 검출되지 않았다고 보고하고 있다. 이러한 결과는 본 실험의 PAP 활성에 대한 preincubation time과 상당한 상관관계를 나타내고 있는 것으로 생각되어지며 앞으로 좀더 상세한 연구검토가 필요하다고 생각된다. Quercetin 또는 epicatechin의 flavonoid는 세포막 인지질 2중층의 외부막에서 검출되는 것으로 보아,³¹⁾ 막유동의 변화에 의한 막결합효소활성에도 영향을 미칠것으로 생각되어진다. 본 실험의 hesperetin도 이와같은 작용에 의해 막결합형 PAP활성에 영향을 미친 것으로 생각된다. 최근 저자들은 orotic acid 유발지방간의 발증에 간장PAP활성을 매개로 한 간장triglyceride합성의 향진이 크게 관여한 결과를 보고한 바 있다.^{15,17,32,33)} 한편, 이러한 지방간 유도물질들 1% hesperetin과 함께 흰쥐에

10일간 투여한 결과, orotic acid 단독 투여에 비해서 간장 triglyceride량의 축적을 강하게 저해 시켰으며, 이러한 효과는 막결합형 PAP활성의 저해에 기인하는 것으로 나타났다.³⁴⁾ 따라서, hesperetin은 *in vivo* 및 *in vitro* 계에서 PAP활성에 큰 영향을 미치는 것으로 보아 고중성지혈증과 관련된 동맥경화와 같은 질환의 치료와 예방에 유용한 생체 조절의 기능성 성분으로 사료된다.

References

1. Manninen, V., L. Tenkanen, P. Koskinen, J. K. Huttunen, M. Manntari, O. P. Heinonen, and M. H. Frick (1992) Triglycerides and LDL-cholesterol and HDL-cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. *Circulation* **85**,37-45.
2. Assmann, G. and H. Schultzh (1992) Relation of HDL-cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (The PROCAM Experiment). *Am. J. Cardiol.* **70**,733-737.
3. Anonymous (1992) Prevention of coronary heart disease : Scientific background and new clinical guidelines. *Nutr. metab. Cardiovasc. Dis.* **2**,113-156.
4. Anonymous (1993) NIH Consensus Development Panel on triglyceride, HDL and coronary heart disease. *JAMA* **269**,505-510.
5. Hertog, M. G. L., E. J. M. Fesken, P. C. H. Hollman, M.B. Katan, and D. Kromhout (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease the Zutphen Elderly Study. *Lancet.* **342**,1007-1011.
6. Kuhnan, J. (1976) The flavonoids. a class of semi-essential food components : their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet* **24**,117-191.
7. Rousff, R. L., S. F. Martin, and C. O. Youtsey (1987) Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin in citrus. *J. Agric. Food Chem.* **35**,1027-1030.
8. Mouly, P. P. M., C. G. Arzouyan, E. M. Gaydou, and J. M. Estienne (1994) Differentiation of citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. *J. Agric. Food Chem.* **42**,70-79.
9. Basarkar, P. W. and N. Nath (1981) Cholesterol lowering action of vitamin P-like compounds in rats. *Indian J. Exp. Biol.* **19**,787-789.
10. Hisatomi, T., E. Hara, J. Furukawa, J. Y. Cha, N. Anno, and T. Yanagita (1995) Effect of dietary hesperidin and their aglycone on the lipid metabolism in rats. Annual Regional Meeting of Agricultural Chemical Society of Japan, Japan Hiroshima, Abstract p.121.
11. Yanagita, T., T. Hisatomi, J. F. Nunez, J. Y. Cha, and N. Anno (1995) The effect of naringin and it aglycon on the lipid metebolismes in rats. 49th Annual Meeting of Japanes Society of Nutrition and Food Science, Japan, kifu. Abstract p.21.
12. Choi, J. S., T. Yokozawa, and H. Oura (1991) Anti-hyperlipidemic effects of flavonoids from *Prunus Da-*

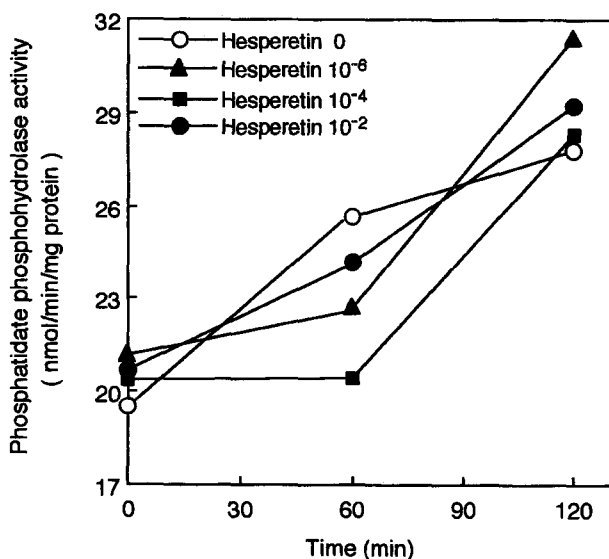


Fig. 5. Effect of hesperetin of the preincubation time for the activity of phosphatidate phosphohydrolase *in vitro*. Each value represents mean \pm SEM of 5 samples.

- vidiana*. *J. Natu. Produc.* **54**,218-224.
13. Kawaguchi, K., T. Mizuno, K. Aida, and K. Uchino (1997) Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. *Biosci. Biotech. Biochem.* **61**,102-104.
 14. Igarashi, K. and M. Ohmuma (1995) Effects of Iso-rhamnetin, rhamnetin and quercetin on the concentration of cholesterol and lipoperoxide in the serum and liver on the blood and liver antioxidative enzyme activities of rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**,595-601.
 15. Yanagita, T., K. Oogami, T. Yamamoto, J. Y. Cha, and J. Nunez (1995) Triglyceride metabolism of fatty liver and the prevention by dietary n-3 fatty acid. *Proc. Jpn. Conf. Biochem. Lipids* **38**,3-6.
 16. Fremont, L. and M. T. Gozzelino (1996) Dietary sunflower oil reduces plasma and liver triacylglycerols in fasting rats and is associated with decreased liver microsomal phosphatidate phosphohydrolase activity. *Lipids* **31**,871-878.
 17. Cha, J.Y., Y., Mameda, K. Yamamoto, and T. Yanagita (1997) Hepatic triacylglycerol accumulation induced by administration of orotic acid is associated with enhanced phosphatidate phosphohydrolase activity in rats. (in submitted)
 18. Yanagita, T., J. Y. Cha, I. Ikeda, K. Oogami, K. Yazawa, N. Nakatani, and K. Imaizumi (1997) Effects of dietary α -linolenic, eicosapentaenoic and docosaheanoic acids on hepatic lipogenesis and β -oxidation in rats. (in submitted)
 19. Hopewell, R., P. Martin-Sanz, A. Martin, J. Saxton, and D. N. Brindley (1985) Regulation of the translocation of phosphatidate phosphohydrolase between the cytosol and the endoplasmic reticulum of rat liver. *Biochem. J.* **232**. 485-491.
 20. Oka, K., S. Maeda, N. Koga, K. Kato, and T. Saito (1992) A modified colorimetric MTT assay adapted for primary cultured hepatocytes : Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**. 1472-1473.
 21. Walton, P. A. and F. Possmayer (1984) The role of Mg^{2+} -dependent phosphatidate phosphohydrolase in pulmonary glycerolipid biosynthesis. *Biochem. Biophys. Acta* **796**, 346-372.
 22. Chen, P. S., T. Y. Toribara, and H. Warner (1956) Microdetermination of phosphorus. *Anal. Chem.* **28**, 1756-1758.
 23. Duncan, D. B. (1959) Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* **1**, 1-42.
 24. Yanagita, T., K. Yamamoto, S. Ishida, K. Sonda, F. Morito, K. Saku, and T. Sakai (1994) Effects of simvastatin, a cholesterol synthesis inhibitor, on phosphatidylcholine synthesis in HepG2 cells. *Cli. Therapeutics*, **16**, 200-208.
 25. Yanagita, T., K. Sonda, K. Yamamoto, H. Yotsumoto, H. J. Nunez, and S. Murakami (1995) Effect of a new acyl-coenzyme A : cholesterol acyltransferase inhibitor, HL-004, on cholesterol esterification and lipid metabolism in HepG2 cells. *Cur. Therapeutic. Res.* **56**, 787-795.
 26. Yotsumoto, H., T. Yanagita, K. Yamamoto, Y. Ogawa, J. Y. Cha, and Y. Mori (1997) Inhibitory effects of Oren-Gedoku-to and its components on cholesteryl ester synthesis in cultured human hepatocyte HepG2 cells : Evidence from the cultured HepG2 cells and *in vitro* assay of ACAT. *Planta Med.* **63**, 141-145.
 27. Yotsumoto, H., E. Hara, Y. J. Hu, F. Nunez, J. Y. Cha, and T. Yanagita (1996) Effects of cis, cis-octadecadienoic acid and serum albumin on lipid metabolism in HepG2 cells. *Bull. Fac. Agr. Saga Univ.* **81**, 47-54.
 28. Mosmann, T. (1983) *J. Immunol. Methods* **65**, 55-57.
 29. Ameer, B., R. Weintraub, and J. Johnson (1995) Metabolism of naringin and hesperidin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **57**, 187.
 30. Unno, T. and T. Takeo (1995) Absorption of (-)-epigallocatechin gallate into the circulation system of rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**, 1558-1559.
 31. Jinji, T., P. Mariusz and Y. Qing (1994) Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. *Arch. Biochem. Biophys.* **308**, 1-7.
 32. Cho, Y. S., S. H. Kim, and J. Y. Cha (1996) Effect of ingested orotic acid on serum, liver and kidney lipid concentration in rats. *Agri. Chem. Biotc.* **39**. 206-211.
 33. Cho, Y. S. and J. Y. Cha (1996) Effect of dietary orotic acid on triacylglycerol metabolism in rats and mice. *Korean J. life Science* **6**, 159-164.
 34. Cha, J. Y., T. Yanagita, T. Hisatomi, and T. Anno (1997) Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the hepatic triacyl glycerol accumulation and its metabolism in orotic acid fed rats. (In submitted)

Effects of Hesperidine, Naringin and Their Aglycones on the *In Vitro* Activity of Phosphatidate Phosphohydrolase, and on the Proliferation and Growth in Cultured Human Hepatocytes HepG2 Cells.

Jae-Young Cha, Young-Su Cho* (*The United Graduate School of Agricultural Sciences, Kagoshima University, Kagoshima 890, Japan, *Department of Agricultural Chemistry, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea*)

Abstract: Effects of four citrus flavonoids, hesperidin, naringin and their aglycones on phosphatidate phosphohydrolase (PAP, EC 3.1.3.3) activity were examined using isolated rat microsomes as an enzyme source. In addition, these flavonoids were tested to see whether they exert any influence on the proliferation and growth in cultured human hepatocytes HepG2 cells. Flavonoids at concentration up to 10^{-4} M had no significant effect on the number of cells and cell proliferation by MTT cell growth assay method, whereas aglycone flavonoids, hesperetin and narigenin, at concentration of 10^{-3} M significantly inhibited cell proliferation. Hesperetin inhibited PAP activity in a dose-dependent manner starting at concentration of 10^{-5} M. Narigenin at concentration of 10^{-3} M inhibited PAP activity markedly, while the other flavonoids did not show any significant effect. The present study, therefore, demonstrated that aglycone flavonoids exerted potent effects on PAP activity and on cell proliferation.

Key words : citrus flavonoids, triacylglycerol, phosphatidate phosphohydrolase, proliferation, HepG2 Cell

*Corresponding author