KOREAN J. POSTHARVEST SCI. TECHNOL.
Vol. 7. No. 2, pp.211~217(2000)

감귤류 플라보노이드가 지질 과산화물 함량에 미치는 영향

차재영 · 김현정 · 김성규 · 이용재 · 조영수
동아대학교 생명자원과학부

Effects of Citrus Flavonoids on the Lipid Peroxidation Contents

Jae-Young Cha, Hyun-Jeong Kim, Sung-Kyu Kim, Yong-Jae Lee and Young-Su Cho
Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University

Abstract

The effects of *Citrus* flavonoids, hesperetin, hesderidin, naringenin, and naringin, on nonenzymatic lipid peroxidation were studied in three different *in vitro* experimental models. Hesperetin showed the most antioxidant effect in this experimental condition by measuring the malondialdehyde production using the thiobarbiturate and thiocyanate methods, the lipid peroxidation of microsomal membranes, and DPPH (α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl) method. The antioxidative activity of the flavonoid aglycone forms, hesperetin and narigenin, was stronger than that of their glycoside forms, hesperidin and naringin. These results that hesperetin, *Citrus* aglycone flavonoid, suggest the most antioxidant effect in this experimental condition, and this effect indicate more potent in the aglycones than their corresponding glycosides.

Key words : *Citrus* flavonoids, hesperetin, antioxidation, TBARS, DPPH

서 론

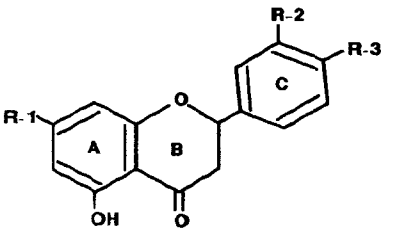
플라보노이드(flavonoid)는 야채와 과일 등의 식물에 널리 존재하고, 벤젠 핵 두 개를 탄소 원자 3개로 연결된 C_6-C_3-C_6의 화학 구조를 형성하고 있는 성분의 총칭으로 두 개의 페닐기에 이중 결합의 유무와 결합 위치, hydroxyl group(-OH) 및 methoxyl group (-OCH_3)의 결합 수 등에 의해 flavone, flavonol, flavanone, flavanonol 및 isoflavone 등으로 분류되며 현재까지 약 4,000종 이상이 알려지고 있다(1,2). 한방약과 생약의 원료로 이용되고 있는 감귤류에도 지금까지 60여종의 플라보노이드가 분리되었으며, 감귤류 특유의 flavanone을 함유하여 이들의 기능성에 대한 평가도 여러 방향에서 검토되고 있다(3,4). 특히, 이들 flavanone 유도체 중에서 hesperidin과 naringin은 체내로 들어가 장내의 당 분해 효소에 의해 가수분해를 받아서 그들의 aglycone 형태인 hesperetin 및 naringenin으로 각각 전환되어 흡수된 후 생체내에서 생리활성을 나타내며, 따라서 혈액 및 간장 등의 조직내에서 이들 aglycone 형태로 검출되고 있다(1,5). 최근 감귤류 플라보노이드의 기능성에 관한 연구로서 항산화 작용(6,7), 사람 간배양 세포 및 동물 실험에서의 고지혈증 억제작용(7-12), 중성지질 합성 효소인 phosphatidate phosphohydrolase 활성 억제(13) 및 지방간 억제작용(14) 등이 보고되어 있다. 천연에 존재하는 플라보노이드는 일상적으로 섭취하는 과일, 채소, 홍차 및 포도주 등에 비교적 많이 함유되어 있으며, aglycone 플라보노이드 양으로서 하루 적게 섭취하는 사람은 5 ㎎, 많이 섭취하는 사람에게서는 500 ㎎ 이상인 것으로 나타나 있다(15). 최근 Zutphen Elderly Study, 유럽 등의 7개국에 있어서의 플라보노이드 섭취량과 관상심장질환과의 관계 및 French Paradox 등의

Corresponding author : Young-Su Cho, Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Hadan-2-dong Sahagu, Pusan 604-714, Korea
E-mail : choys@mail.donga.ac.kr

역학적 연구보고에서 플라보노이드의 섭취량과 심혈관계 질환에 의한 사망률과의 사이에 높은 역관계가 있는 것으로 나타나(15-17), 심장질환 등의 혈관계 질환의 예방에 있어서 이들 플라보노이드의 역할이 크게 주목받게 되었다.

오늘날 경제성장에 따른 풍족한 식생활을 영위하며 평균수명도 날로 증가하고 있으나 식생활 패턴의 변화로 인해 뇌 혈관계 질환, 심장병, 고혈압, 당뇨병 등의 순환기계 질환으로 인한 사망률이 크게 높아져 건강에 대한 관심이 고조되고 있다(18). 이러한 만성 퇴행성 질환들은 생체 내에서 산화 스트레스에 의해서 free radical을 생성하여 생체막 지질을 과산화시킬 수 있으며, 지질 과산화물의 증가는 여러 조직을 손상시켜 대사 장애를 초래함으로서 질병을 유발하게 된다(19,20). 따라서 생체내에서 free radical 형성에 의한 산화적 손상을 억제시킬 수 있는 항산화 성분의 탐색이 요구되며, 이는 순환기계 질환 등 만성질환의 발병률을 낮추는 데에도 크게 기여할 것으로 생각된다.

이러한 관점에서 감귤류 특유의 성분인 flavanone 유도체를 이용하여 생리활성 물질을 탐색하는 연구가 이루어지고 있으나 이들 성분들에 의한 생리활성이 각각 다르게 나타나기 때문에 각 성분들의 특성을 밝히는 연구가 반드시 이루어 져야 한다. 따라서 본 실험에서는 감귤류 특유의 구성성분으로 생리기능 물질로 알려져 있는 flavanone 유도체인 hesperidin과 naringin, 그리고 이들의 aglycone 플라보노이드인 hesperetin과 naringenin을 이용하여 이들 각 성분의 특성을 밝히기 위한 실험의 일환으로서 *in vitro* 항산화 실험계인 DPPH 수소 공여능, thiocyanate 측정법, TBARS 측정법 및 microsomes 생체막 지질 과산화물 측정법으로 비교 검토하였다.



	R-1	R-2	R-3
Hesperidin	O-Neohesperidos	OH	$O-CH_3$
Hesperetin	OH	OH	$O-CH_3$
Naringin	O-Rutinos	H	OH
Naringenin	OH	H	OH

Fig. 1. Chemical structure properties of citrus flavonoids.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

실험 재료인 hesperetin, hesperidin, naringenin, naringin (Fig. 1)은 Nippon Shinyaku Co.(Kyoto, Japan)로부터 제공받았으며, HPLC로 측정한 순도는 97% 이상이었다. DPPH (α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl), ammonium thiocyanate 및 linoleic acid는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, U.S.A)로부터 구입하였다.

DPPH radical 소거 활성

DPPH용액은 100 ㎖ 에탄올에 DPPH 16 ㎎을 녹인 후 증류수 100 ㎖를 혼합하여 Whatman filter paper No.2로 여과시켜 만들었다. 플라보노이드는 *dimethyl sulfoxide*에 용해시킨 후 증류수를 넣어 최종 농도 0.05%의 농도로 만든 다음 1 ㎖를 취해 DPPH 용액 5 ㎖와 혼합하여 5분 간격으로 528 nm에서 흡광도 감소를 측정하였다(21). 이때 대조구인 butylated hydroxytoluene (BHT)는 0.005% 농도로 첨가하여 위에서와 동일한 방법으로 흡광도 감소를 측정하였다.

Fe^{2+}/ascorbate에 의하여 유도된 microsome 생체막 지질 과산화물

성장기의 정상 마우스(ddY)를 디에틸에테르로 가볍게 마취시킨 후 개복하여 적출한 간장을 냉각된 생리식염수로 즉시 씻고 여과지로 물기를 흡수시킨 다음 *1.15% KCl-10 mM phosphate buffer*(pH 7.4)를 가하여 homogenizer로 균질화 시켰다. 이 용액을 4℃로 설정된 냉각원심분리기(Kubota, KR-20000 T, Tokyo, Japan)로 12,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 상층액을 4 겹의 가제로 여과하고, 여액을 4℃로 설정된 초원심분리기(Hitachi 55p-72, Tokyo, Japan)에서 45,000 rpm으로 45분간 원심분리하여 침전된 분획에 1.15% KCl-10 mM phosphate buffer(pH 7.4)을 일정량 가하여 microsome 분획으로 하여 실험에 사용하였다. 항산화 활성은 Wong 등(22)의 방법에 따라 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.5) 1.5 ㎖에 각 시료 용액 0.2 ㎖ (6 ㎎/㎖), 간 microsome 분획(1 ㎖중 1 ㎎의 단백질 함유) 0.1 ㎖, 0.1 mM ascorbate 0.1 ㎖ 및 5 mM $FeSO_4$ 0.1 ㎖를 차례로 가하여 반응액을 잘 혼합한 후 37℃의 shaking water bath에서 1시간 반응시켜 생체막 지질 과산화를 유도시켰다. 이때 대조구는 시료를 첨가시키지 않고 위에서와 동일한 방법으로 실시하였다. 반응 후 3 M trichloroacetic acid와 2.5 N HCl의 혼합용액 0.5 ㎖를 가하고 3,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상층액 1 ㎖를 취하여

0.67% 2-thiobarbituric acid (TBA) 1 ㎖를 가하여 혼합하고 끓는 물 속에서 30분간 가열하여 발색시켰다. 냉각 후 533 nm에서 흡광도를 측정하였고, 지질 과산화의 억제율은 대조구의 흡광도에 대한 시료의 상대적 저해율(%)로 나타내었다.

Thiocyanate 측정법에 의한 항산화 활성

Osawa의 방법(23)에 따라 먼저 linoleic acid(25 ㎎/㎖ in EtOH), ferrous chloride(2.45 ㎎/㎖ in 3.5% hydrochloric acid), ammonium thiocyanate (0.3 g/㎖ in H_2O), 0.2 M phosphate buffer(pH 7.0)를 조제하여 이들을 stock solution으로 사용하였다. 반응용액은 각 시료용액 0.2 ㎖(6.0 ㎎/㎖), linoleic acid 용액 0.2 ㎖을 시험관에 넣고 혼합한 후 phosphate buffer 0.4 ㎖와 증류수 0.2 ㎖를 가하여 은박포장 한 후 40℃에서 반응시키면서 일정 시간의 간격으로 측정하였다. 측정 방법은 반응용액에서 0.1 ㎖를 취하여 시험관에 넣고 70% ethanol 3 ㎖과 ammonium thiocyanate 용액 0.1 ㎖, ferrous chloride 용액 0.1 ㎖를 혼합한 후 정확히 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 활성의 비교를 위하여 합성 항산화제인 BHT를 시료 첨가량의 1/10량을 사용하여 BHT 첨가구로 하였다.

TBA (2-thiobarbituric acid)에 의한 항산화 활성

플라보노이드의 각 시료용액 1 ㎖(6.0 ㎎/㎖), linoleic acid (25 ㎎/㎖ in ethanol) 1 ㎖을 시험관에 넣고 잘 혼합한 후 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0) 2 ㎖와 증류수 1 ㎖를 혼합하여 40℃에서 반응시키면서 일정 시간의 간격으로 측정하였다. 측정 방법은 반응액 0.5 ㎖를 시험관에 넣고 35% trichloroacetic acid 0.25 ㎖와 0.75% TBA 시약 0.5 ㎖를 혼합한 후 boiling water bath에서 가끔씩 흔들어 주면서 15분간 처리하여 냉각시킨 후 70% trichloroacetic acid 0.5 ㎖를 가하여 20분 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상징액을 532 nm에서 흡광도를 측정하여 TBA 값으로 나타내었다. 이때 활성의 비교를 위하여 합성 항산화제인 BHT를 시료 첨가량의 1/10량을 사용하여 BHT 첨가구로 하였다.

결과 및 고찰

감귤 플라보노이드의 DPPH radical 소거활성

DPPH는 아스코르빈산, 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 정도를 항산화 물질의 수소공여능으로 측정하는 방법이다. 페놀계 합성 항산화제로 널리 사용되고 있는 BHT를 0.005% 수준으로 첨가하여 대조구로 하였다. 각 시료 첨가구에서 반응시간 경과와 더불어 짙은 자색용액인 DPPH 용액은 수소공여능 정도에 따라 528 nm에서 흡광도의 감소를 보였으며, BHT> hesperetin> naringenin> hesperidin> naringin 순으로 나타났다 (Fig. 2). Hesperetin과 naringenin은 그 들의 glycoside 플라보노이드 보다 높은 항산화 활성을 보였다.

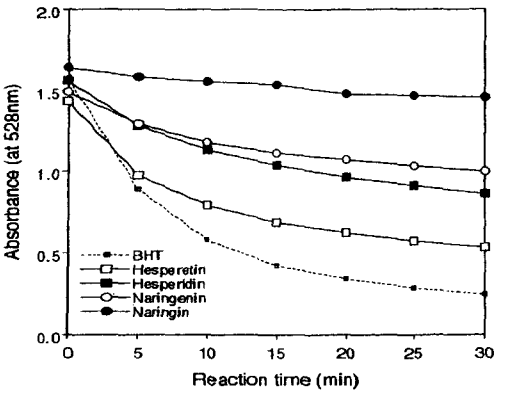


Fig. 2. Effects of citrus flavonoids (0.05%) on the changes of the free radical level as measured by DPPH (α, α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl) method.

Thiocyanate 측정법에 의한 항산화 활성

Linoleic acid를 이용한 thiocyanate 방법으로 항산화 활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 플라보노이드를 첨가하지 않은 대조구에 비교해서 합성 항산화제 BHT 첨가구에서 현저한 활성을 보였다. 감귤류 플라보노이드 중 hesperetin 첨가구에서 반응 2일째까지는 BHT와 동일한 효과를 나타내었으나, 반응 4일째부터 점차로 증가하기 시작하여 무첨가 대조구의 산화 수준까지 도달하는 시간은 8일로 나타났다. 그렇지만 다른 플라보노이드 첨가구에서는 대조구와 비슷한 경향을 보임으로서 항산화 효과가 미약한 것으로 나타났다. 따라서 본 실험의 조건에서 감귤류 플라보노이드 중에는 hesperetin 첨가구에서 가장 강한 항산화 효과를 나타내어 DPPH 수소 공여능의 결과와 일치하였다. 일반적으로 DPPH 수소 공여능이 강할수록 항산화 효과가 높다는 이전의 연구 결과와 일치하는 것이다(24,25). 한편 thiocyanate 방법으로 측정한 결과에서 hesperetin 첨가구가 가장 강한 활성을 보였기 때문에 0.3, 0.6 및 0.9 ㎎/㎖의 보다 낮은 농도로 첨가하여 동일한 방법으로 검토한 결과 항산화 활성에 있어서 시료 무첨가구 또는 시료 첨가 농도별 큰 차이를 나타내지 않았기 때문에 항산화 활성을 나타내기 위해서는 적어도 0.9 ㎎/㎖

이상의 농도가 필요할 것으로 사료되었다 (Fig. 4).

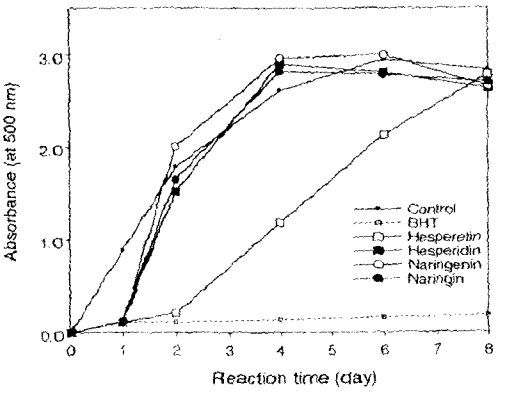


Fig. 3. Antioxidative activity of citrus flavonoids (3.0 ㎎/㎖) in the linoleic acid system as measured by thiocyanate method.
Butylated hydroxytoluene(BHT) was added at the level of 0.6 ㎎/㎖ as the standard sample.

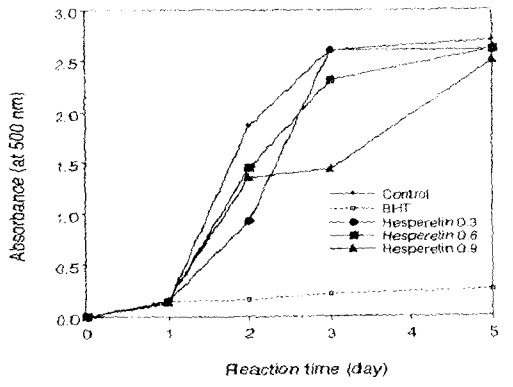


Fig. 4. Antioxidative activity of hesperetin(0.3, 0.6 or 0.9 ㎎/㎖) in the linoleic acid system as measured by thiocyanate method.
Butylated hydroxytoluene(BHT) was added at the level of 0.6 ㎎/㎖ as the standard sample.

TBA 측정법에 의한 항산화 활성

지질 과산화의 지표로서 사용되는 TBA 측정법은 불포화 지질로부터 과산화 반응에 의해 생성되는 lipid peroxide, malondialdehyde 등과 TBA 시약이 반응하여 적색색소를 생성하는 원리를 이용하여 정량하는 방법이다. Hesperetin 첨가구는 BHT 첨가구와 큰 차이를 보이지 않으면서 반응 7일째까지 강한 항산화 활성을 보였다 (Fig. 5). Hesperidin 첨가구는 무첨가의 대조구와 비슷한 경향을 나타내었다. 그러나 narigenin과 naringin 첨가구에서는 대조구 보다 상당히 높은 산화 수준을 보임으로서 오히려 산화를 촉진시키는 것으로 나타났다. Liposome 계를 이용한 TBA 측정에서 레몬 유래의 hesperetin 0.1 mM 첨가구에서는 대조구의 약 60% 감소를 보였으나, naringenin 0.1 mM 첨가구에서는 대조구와 전혀 차이가 없는 것으로 나타나 본 실험과 유사한 결과를 보였다(26). 플라보노이드에 의한 지질 과산화 억제작용은 그들의 구조적 특징에 의해서 영향을 받는다고 보고되어 왔다(27,28). 플라보노이드가 지질 과산화를 효과적으로 억제하기 위한 구조적 조건으로는 C환의 C-3 위치에 hydroxyl기가 존재하고(27,29), C환의 C-1, C-2와 C-3 사이에 이중결합의 유무(27,29), C-4 위치에 carbonyl기가 존재하며(27,28), 또한 hydroxyl기가 A환의 C-5, C-7 위치에 B환의 C-3′, C-4′ 위치에 C환의 C-3 위치에 있으면서(28,30), 그 수가 많을수록 좋다고 하였다. 플라보노이드 중에서는 당의 결합에 의해서도 영향을 받는데 glycoside 형태보다는 aglycone 형태로 존재하는 것이 강한 활성을 나타낸다고 하였다(26,29). 그러나, 본 실험에 사용된 hesperetin은 C-5와 C-3′ 위치에 hydroxyl기가 존재하고, C-7과 C-4′ 위치에 각각 O-rhamnose-glucose와 methyl기가 치환되어 있다. Naringin은 C-7과 C-4′ 위치에 hydroxyl기가 존재하고, C-5 위치에 O-rhamnose-glucose가 치환되어 있기 때문에 위에서 설명되어 있는 조건을 충족시키지 못한다. 그렇지만 hesperidin의 aglycone 플라보노이드인 hesperetin은 A환의 C-5, C-7 및 B환의 C-3과 C-4 위치에 hydroxyl기가 있음으로써 감귤류 플라보노이드 중에서는 항산화 활성을 발휘할 수 있는 조건을 가장 많이 갖추고 있기 때문에 본 실험에서 가장 강한 성을 나타낸 것으로 시사된다. 또한 플라보노이드에 결합 되어있는 당이 가수분해되어 생성된 aglycone 형태의 플라보노이드는 malondialdehyde 생성 억제에 효과적인 것으로 알려져 있어서(28,30), hesperetin과 naringenin에서 수소

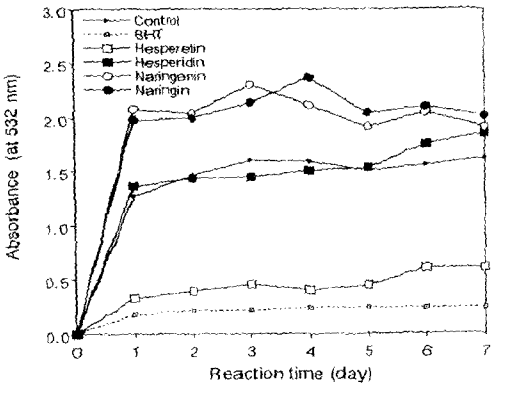


Fig. 5. Antioxidative activities of citrus flavonoids(6.0 ㎎/㎖) in the linoleic acid system as measured by thiobarbituric acid method.
Butylated hydroxytoluene(BHT) was added at the level of 0.6 ㎎/㎖ as the standard sample.

공여능 활성이 높고 지질 과산화물 생성 억제가 강한 것도 이들과 어떤 관련성이 있는 것으로 생각된다.

Microsome막 지방산 산화계를 이용한 항산화 활성

정상 마우스로부터 분획한 microsome 생체막 지질의 과산화물 생성 지표로 알려져 있는 TBARS를 측정하는 방법으로 항산화 활성을 나타낸 결과는 Fig. 6과 같다. Microsome 항산화 실험계에서는 무첨가 대조구를 100%로 하여 플라보노이드 첨가구의 활성을 상대 활성도로 하여 나타낸 결과, hesperetin과 naringenin 첨가구에서 약 40% 감소하였으나 naringin 첨가구에서는 대조구와 큰 차이를 보이지 않았다. 생체막 지질 과산화 반응은 여러가지 독성 화학물이나 약물 또는 당뇨병 등의 생체 이상에 의해 인체 조직의 세포에 중대한 손상을 입히는 것으로 알려져 있다(31). 천연 항산화제들은 대부분 식물 기원의 항산화성 화합물로서 나무, 수피, 줄기, 잎, 과일, 뿌리, 꽃, 열매, 씨앗 등의 모든 부분에 존재하고 있으며, 이들은 주로 폴리페놀 화합물로서 지질의 자동산화 조건에 의해 생성된 유리 라디칼의 생성을 지연시키거나 활성을 저해하여 항산화 물질로서의 역할을 한다(25,32). 꾸지뽕나무 각 부위로부터 추출한 유기용매 분획과 플라보노이드에 의해서도 흰쥐 간장으로부터 조제한 microsome 실험계에서 지질 과산화물 생성을 억제 시켰는데(33), 이들의 주요 생리활성 성분으로 kaempferol과 naringenin 유도체로 밝혀져 이들이 항산화 물질로서 작용 한 것으로 추정되었다(34). 그러나 흰쥐 간 microsome에의 $FeSO_4$와 cystein에 의해서 유도된 지질 과산화에 대한 *in vitro* 연구에서 hesperidin과 naringin 모두 지질 과산화 작용이 약하다고 보고된 바 있다(27). 그렇지만 hesperidin과 naringin을 식이중에 1% 수준으로 첨가하여 흰쥐에게 섭취시켰을 때는 간장 및 혈장에서 지질 과산화물 생성을 억제시켰다고 하였다(34). 또한, streptozotocine 유발 당뇨 실험쥐에 hesperidin을 섭취시켰을 때 간장, 신장 및 혈장에서 지질 과산화물 생성과 뇨중의 8-OHdG 생산이 억제되었다(31). 이러한 결과는 *in vivo*계와 *in vitro*계에서 상호간에 상당한 차이를 나타내는 결과들이다.

감귤류의 배당체 플라보노이드인 hesperidin과 naringin은 인체 내에 흡수될 때 장내세균에 의해 당이 가수분해를 받아서 이들의 aglycone 형태인 hesperetin과 naringenin으로 각각 혈액과 간장 등에서 검출된 바 있다(1). 또한, hesperidin과 naringin을 함유한 주스를 건강한 25세의 남성에게 (11 ㎎/㎏ body weight/day) 30일간 음용시킨 후 혈액과 뇨를 채취하여 분석한 결과, 이들 배당체 플라보노이드는 검출되지 않았으나 그들의 aglycone 형태인 hesperetin과 naringenin은 상당량 검출되었다(5). 따라서 배당체 플라보노이드가 흰쥐의 생체내에서 지질 과산화물 생성을 억제시킨 것은 소장에서 당 가수분해를 받아서 aglycone 형태로 흡수된 후 생리활성 성분으로서 작용한 것으로 시사된 바 있다.

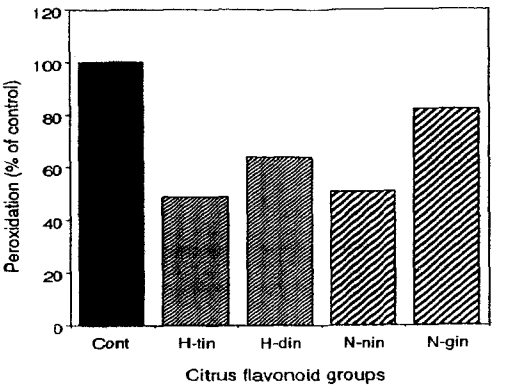


Fig. 6. Antioxidative activities of citrus flavonoids(6.0 ㎎/㎖) in the hepatic microsomal system as measured by thiobarbituric acid method.
Cont : control, H-tin : hesperetin, H-din : hesperidin, N-nin : naringenin, N-gin : naringin.

세포내 미토콘드리아 내막 중에 존재하면서 호흡쇄에 관여하는 효소인 dehydrogenase에 의해 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium)가 분해되면서 생성되는 MTT formazan 량은 대사적으로 활성이 있는 살아있는 세포 수와 거의 비례하는 것으로 알려져 있다(36). 흰쥐 간 초대배양 세포에서 측정한 formazan 량과 malondialdehyde(MAD) 생산량과의 사이에 밀접한 역상관관계를 나타내는 결과가 보고된 바 있다(37). 저자들도 사람 간종양 세포주인 HepG2에 본 실험에서 사용한 감귤류 플라보노이드를 첨가하여 24시간 배양한 후 formazan를 측정한 결과, hesperetin 첨가구에서 세포 증식이 가장 현저하게 증가된 결과를 보고한 바 있다(13). 따라서 감귤류 aglycone 플라보노이드인 hesperetin과 naringenin은 세포내에서 항산화 물질로서 작용하여 활성을 가짐으로서 생체내 지질과산화물 생성을 억제시켜 세포 독성을 감소시킴으로서 세포의 증식을 촉진시키는 것으로 사료되었다. 따라서 세포내 formazan 생성량과 항산화활성 사이에 상관관계가 있는 것으로 나타났다.

본 연구에서 사용된 감귤류 플라보노이드는 감귤 과피에 많이 함유된 생리활성 성분으로서 특히 hesperetin에 의한 높은 항산화 활성을 이용한다면 새로운 기능성 식품의 소재로 개발될 가능성이 기대되며, 또한 식

품자원의 부산물을 효율적으로 이용한다는 측면에서 경제적인 가치가 충분히 인정될 것으로 생각되어진다.

요 약

식물성 성분의 생리활성 인자를 탐색할 목적으로 감귤류 유래의 플라보노이드인 hesperetin, hesperidin, naringenin 및 naringin의 항산화 효과를 DPPH법, thiocyanate법 및 microsome 막 지질 과산화물 생성정도의 TBARS법으로 측정하여 비교 검토하였다. DPPH 측정법에 의한 수소공여능은 0.05% 수준으로 첨가한 각 첨가구에서 BHT〉 hesperetetin〉 naringenin〉 hesperidin〉 naringin 순으로 나타나, aglycone 플라보노이드에서 비교적 강한 활성을 보였다. Linoleic acid를 이용한 thiocyanate 측정법과 TBARS 측정법 및 microsome 생체막 지질 과산화물 측정법에서도 hesperetin 첨가구에서 가장 강한 항산화 활성을 나타내었다. 이러한 항산화 활성은 aglycone flavonoid인 hesperetin과 naringenin이 그들의 glycoside flavonoid인 hesperidin과 naringin 보다 높았다. 이상의 결과에서 감귤류 플라보노이드 중에서는 aglycone 플라보노이드인 hesperetin에서 가장 강한 항산화 효과를 나타내었다.

참고문헌

1. Kuhman, J. (1976) The Flavonoids. A class of semi-essential food components : their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet,* **24**, 117-191
2. Pierpoint, W.S. (1986) Flavonoids in the human diet. In Plant Flavonoids in Biology and Medicine, Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationship. Alan R. Liss, New York, U.S.A., p. 125-140
3. Mouly, P.P.M., Arzouyan, C.G., Gaydou, E.M. and Estienne, J.M. (1994) Differentiation of *Citrus* juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. *J. Agric. Food. Chem.* **42**, 70-79
4. Rousff, R.L., Martin, S.F. and Youtsey, C.O. (1987) Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin in Citrus. *J. Agric. Food. Chem.* **35**, 1027-1030
5. Ameer, B., Weintraub R. and Johnson, J. (1995) Metabolism of naringin and hesperidin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **57**, 186-190
6. Jeong, W.S., Park, S.W. and Chung, S.K. (1997) The antioxidative activity of Korean *Citrus unshiu* peels. *Foods and Biotechnology,* **6**, 292-296
7. Kim, H.J., Bae, K.H., Lee, H.J., Eun, J.B. and Kim, M.K. (1999) Effects of hesperidin extracted from *Tangerine* peel on lipid metabolism, and antioxidative capacity in rats. *Korean Nutr.* Sco., **32**, 137-149
8. Monforte, M.T., Trovato, A., Kirjavainen, S., Forestieri, A. M. and Galati, E. M. (1995) Biological effects of hesperidin, a *Citrus* flavonoid. (note II) : Hypolipidemic activity on experimental hyper- cholesterolemia in rat. *IL. Farmco.* **50**, 595-599
9. Kawaguchi, K., Mizuno, T., Aida, K., and Uchino, K. (1997) Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **61**, 102-104
10. Cha, J.Y., Kim, S.Y., Jeong, S.J. and Cho, Y.S. (1999) Effects of hesperetin and naringenin on lipid concentration in orotic acid treated mice. *Korean J. Life Science,* **9**, 389-394
11. Kim, B.K., Cha, J.Y. and Cho, Y.S. (1999) Effects of Citrus flavonoid, hesperidin and naringin on lipid metabolism in HepG2 cells. *Korean J. Life Science,* **9**, 382-388
12. Cha, J.Y., Lee, J.W., Lee, Y.C. and Cho, Y.S. (2000) Effects of citrus algycone flavonoids, hesperetin and naringenin, on triacylglycerol metabolism in hamsters fed with a cholesterol diet. *Inter. J. Oriental Med.,* **1**, 28-36
13. Cha, J.Y. and Cho, Y.S. (1997) Effects of hesperidin, naringin and their aglycones on the in vitro assay phosphatidate phosphohydrolase, and on the proliferation in cultured human hepatocytes HepG2 cells. *Agri. Chem. Biotech.* **40**, 577-582
14. Cha, J.Y., Mameda, Y., Furukawa, J., Rahman, M., Anno, N. and Yanagita, T. (1997) Preventive effect of hesperetin on orotic acid-induced fatty liver. 51th *annual Meeting of Japanese Society of Nutrition and Food Science(Japan,Tokyo).* p.114
15. Hertog, M.G.L., Fesken, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B. and Kromhout, D. (1993) Dietary antioxidant fravonoids and risk of coronary heart disease the Zutphen Elderly Study. *Lancet* **342**, 1007-1011

16. Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S, Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B.S., Toshima, H., Fesken, E.J.M., Hollman, P.C.H. and Katan, M.B. (1995) Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch. Intern. Med.* **155**, 381-386
17. Renand, S. and de Lorgeril, M. (1992) Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* **339**, 1523-1526
18. Annual report on the cause of death statistics. National Statistical Office, Republic of Korea (1996)
19. Plaa, G.L. and Witschi, H. (1976) Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxical.*, **16**, 125-131
20. Alordmann, R., Ribierre, C. and Rouach, H. (1990) Ethanol induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol.*, **25**, 231-237
21. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1204
22. Wong, S.F., Holliwell, B., Richimond, R. and Skowroneck, W.R. (1981) The role of superoxide and hydroxyl radical in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorganic. Biochem.* **14**, 127-134
23. Osawa, T. (1981) A novel type of antioxidant isolated from leaf was of Eucalyptus leaves. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 735-739
24. Lee, J.S. and Cheigh, H.S. (1997) Antioxidative characteristics of isolated crude phenolics from soybean fermented foods (Doenjang). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 376-382
25. Cha, J.Y., Kim, H.J., Chung, C.H. and Cho, Y.S. (1999) Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of Cudrania tricuspidata. *J. Korean Sco. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1310-1315
26. Miyake, Y., Yamamoto, K., Morimoto, Y. and Osawa, T. (1997) Isolation of C-glucosylflavone from lemon peel and antioxidative activity of flavonoid compounds in lemon fruit. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 4619-4623
27. Mora, A., Paya, M., Rios, J.L. and Alcaraz, M.J. (1990) Structure-activity relationships of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of nonenzymic lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.*, **40**, 793-797
28. Ratty, A.K. and Das, N.P. (1988) Effects of flavonoids on nonenzymic lipid peroxidation structure activity relationship. *Biochem. Med. Metabol. Biol.*, **39**, 69-79
29. Isabelle, M., Gerard, L., Pascale, C., Odie, S., Nicole, P., Pierre, B., Pierre, C. and Tosiame, C. (1993) Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte culture. *Biochem. Pharmacol.*, **45**, 13-19
30. Moroney, M.A., Alcaraz, M.J., Forder, R.A., Carey, F. and Hoult, J.R. (1988) Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxigenase inhibition by an antiinflamatory flavonoid glycoside and relative aglycone flavonoids. *J. Pharm. Pharmacol.*, 40, 787-792.
31. Miyake, Y., Yamamoto, K., Tsujihara, N. and Osawa, T. (1998) Protective effect of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids*, **33**, 689-695.
32. Cha, J.Y. and Cho, Y.S. (1999) Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1131-1136
33. Park, J.C., Choi, J.S. and Choi, J.W. (1995) Effects of the fraction from the leaves, fruits, stems and roots of Cudrania tricuspidata and flavonoids on lipid peroxidation. *Kor. J. Pharmacogn*, **26**, 377-384.
34. Pack, I.C., Young, H. S. and Choi, J.S. (1992) Constituents of Cudrania tricuspidata in Korea. *Yakhak Hoeji*, **36**, 40-45
35. Sohn, J.S. and Kim, M.K. (1998) Effects of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. *Korean Nutr. Soc.*, **31**, 687-696
36. Oka, K., Maeda, S., Koga, N., Kato, K. and Saito, T. (1992) A modified colorimetric MTT assay adapted for primary cultured hepatocytes : Application to proliferation and cytotoxity assays. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **56**, 1472-1473
37. Gebhardt, R. (1997) Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (Cynara scolymus L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxical. Appl. Pharmacol.*, **144**, 279-286

(접수 2000년 3월 18일)