

감귤류 플라보노이드의 생리기능 활성

차재영 · 조영수*

동아대학교 생명자원과학부

(2001년 3월 19일 접수, 2001년 4월 16일 수리)

감귤류 유래 플라보노이드인 hesperidin 및 naringin과 이들의 aglycone 형태인 hesperetin 및 naringenin의 생리기능 활성에 대하여 동물(흰쥐 및 햄스터)실험을 통한 지질대사, 인체 간중양 세포주 HepG2 세포를 이용한 암세포 생육 및 지질대사, 노화와 질병의 원인이 되는 불포화 지방산의 지질 과산화 억제 작용을 중심으로 고찰하였다. 이들 감귤류 플라보노이드는 흰쥐에서의 콜레스테롤 농도 저하작용 및 햄스터에서의 중성지질 농도 저하작용을 나타내었다. 이러한 대사 기작으로서 콜레스테롤 및 중성지질 합성의 중요 조절효소로 알려진 acyl-CoA: cholesterol acyltransferase(ACAT) 및 phosphatidate phosphohydrolase(PAP) 활성이 *in vivo* 및 *in vitro* 실험계에서 현저히 저해되었으며, 특히 aglycone 형태의 플라보노이드에서 그 효과가 강하게 나타났다. 또한, 이들 플라보노이드는 인체 간중양 세포주 HepG2 세포를 이용한 실험에서 암세포 생육 억제 및 세포내 콜레스테롤과 중성지질 농도를 저하시키는 효과도 인정되었다. Hesperetin은 실험적으로 유도한 간질환을 개선시켰다. 노화 및 질병의 발생과 깊이 관련된 것으로 알려진 불포화지방산 과산화 반응을 억제시키는 항산화 효과도 확인되었는데, hesperetin에서 좋은 효과를 나타내었다. 이상의 결과에서 감귤류 유래 플라보노이드는 동물의 혈중 콜레스테롤 및 중성지질 억제작용에 의한 혈관계 질환 개선효과, 지방간을 비롯한 간질환 개선효과, 암세포 증식억제 작용, 노화 및 질병의 원인이 되는 지질 과산화 억제 작용 등 건강에 관련된 다양한 생리기능 활성이 존재하는 것을 확인하여 기능성 성분의 연구로 일정한 효과를 얻었다. 따라서 이러한 감귤류 유래의 생리활성 성분의 연구목적은 건강증진 효과를 높이는 식품의 개발과 식품 첨가물의 신규 수요를 증대시켜 국민의 건강을 향상시키는데 있다.

Key words: 감귤 플라보노이드, 헤스페레틴, 고질혈증, 항산화, 생리기능활성

서 론

감귤류는 한방약이나 생약의 원료로 사용되고 있듯이 기능성이나 약효 성분이 많이 함유되어 있는 과일이다. 최근 감귤류는 우리나라에서 가장 많이 생산되는 과일로 재배면적이 계속 증가하여 1999년 현재 26만3천 ha에서 연간 약 624만2천 M/T이 생산되어 대부분 소비되고 있다(Table 1). 감귤 과피는 진피, 귤피, 지실 등의 이름으로 한방처방의 원료인 동시에 비타민, 식이섬유, 유기산 및 유리당 등의 영양성분 공급원으로 건강식품의 소재로서 그 소비량도 증가 추세에 있다.^{1,2)} 이러한 감귤류에는 flavonoid류, carotenoid류, coumarin류, phenylpropanoid류, limonoid류 등 다양한 성분이 함유되어 있는 것이 특징이며, 이들의 생리기능 활성에 대한 평가연구도 활발히 진행되고 있다.^{3,4)}

Flavonoid류는 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~1,000 mg 정도이고 특이한 부작용이 없는 것으로 알려져 있다.^{1,5)} 감귤류에 유래하는 주요 플라보노이드 화합물은 naringin과 hesperidin 그리고 이들의 aglycone 형태인 naringenin과 hesperetin이며, 그 밖에도 rutin, deosmine,

nobiletin, tangeretin 등이 있다.^{6,7)} 이들의 기능성에 대한 평가로서는 항산화 작용, 순환기계 질환의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하 작용, 면역증강 작용, 모세혈관 강화작용 등이 보고된 바 있다.⁸⁻¹¹⁾ 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 연구자들의 *in vivo* 및 *in vitro* 실험을 통한 연구결과를 중심으로 소개하고자 한다.

본 론

감귤류의 식품영양학적 가치. 신선한 감귤에 함유되어 있는 영양소는 당질(포도당 16~26%, 과당 45~66% 등), 유기산(구연산 90%, 사과산 1~9% 등), 비타민(비타민 C 35 mg/100 g),

Table 1. Cultivation area and production of citrus species

Year	Cultivation area (1,000 ha)	Production (1,000 M/T)
1995	23.6	614.8
1996	24.7	514.1
1997	25.7	648.9
1998	25.8	511.9
1999	26.3	624.2

*연락처

Phone: 82-51-200-7586; Fax: 82-51-200-7505

E-mail: choys@mail.donga.ac.kr.

Table 2. Biological compounds and pharmacological effects of citrus species

Ingredient	Biological compounds	Pharmacological effects
Flavonoids	hesperidin, hesperetin, naringin, naringenin, nobiletin, deosmine, tangeretin, rutin, poncirin	Hypocholesterolemic effect
		Lipase activity inhibition
		TNF activation
		Antimicrobial activity
		Antihypertension
		Antioxidation
		Antimutagenesis
		Capillary permeability
		Antihepatotoxic effect
		Antiinflammatory effect
Oil component	limonoid, limonene	Antihypertension
		Anticancer
		Oxidative stress reduction
		Antitumore
		Hypocholesterolemic effect
Alkarioid	synephrine, akulidone	Antimutagenesis
		Antihypertension
		Capillary permeability
Mineral	calcium	Osteoporosis prevention
Fiber	cellulose, pectin	Regeneration activation
		Antiinflammatory effect
Vitamin	vitamin C	Regeneration activation
		Fatigue recovery
		Appetite stimulation
Organic acid	citric acid	Appetite stimulation
Carotenoid	β-crytoxanthin, zoaxanthin, violaxanthin, β-cytoraurin	Antimutagenesis
		Anticancer
Coumarin	auraptene	Antimutagenesis

무기질(칼륨 109~186 mg/100 g, 칼슘 12~53 mg/100 g 등), 식이섬유(셀룰로스, 펙틴 등)의 공급원이다.¹²⁾ 최근에는 감귤류를 손쉽게 구입하여 식용화 할 수 있기 때문에 이들 영양소의 좋은 공급원 일뿐만 아니라 감귤 특유의 향기성분은 사람의 중추 신경 흥분을 진정시키는 작용이 있는 것으로 알려져 가정에서 우리가 휴식을 취하면서 먹고있는 사이에 우리가 감지하지는 못하지만 체내에 흡수되어 피로회복, 신경안정, 숙면의 효과가 있는 것으로 알려져 있어 여러 질병의 예방에 도움이 될지도 모른다. 또한, 감귤류의 신맛은 식욕증진의 효능 때문에 임산부가 가장 먼저 찾는 과일이 감귤이라고 하는 이야기도 구전으로 내려오고 있다. 이처럼 다양한 영양성분 및 생리활성 성분을 함유한 감귤류는 우리나라에서 가장 많이 생산되는 과일로서 국민 한사람이 연간 약 10kg 정도를 소비하고 있어 국민 건강을 향상시키는데 일조를 담당하는 것으로 사료된다.

감귤류의 생체조절 기능성분. 감귤류에 함유되어 있는 생리활성 화합물로서는 flavonoids, monoterpenes, triterpenes, coumarins, carotenoids, phenylpropanids, akulidone 등이 있다. 이 중에서 akulidone과 limonoid는 감귤류가 속하는 밀감과 식

물에만 존재하는 특유한 화합물이며, flavonoid 및 coumarin류에는 특이적으로 밀감과 식물에서 분리된 화합물이 많이 보고되어 있다.^{6,7)} 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) 이외의 야채, 과일에서는 보고되지 않는 tangeretin, nobiletin과 같은 플라보노이드로 분류할 수 있는데, 이들의 기능성에 관한 연구로서는 2)의 화합물을 대상으로 연구가 활발하게 이루어져 많은 연구결과가 얻어졌다.^{8-10,13)} 최근에는 감귤류 고유의 플라보노이드인 tangeretin에 암세포의 침윤 및 전이 방지 효과, 암세포의 아포토시스 유도효과 및 백혈병 세포의 분화 촉진 작용이 강한 것으로 밝혀졌다.¹⁴⁾ 이들 생리활성 성분의 특성을 정리해 보면 Table 2와 같다. 특히 naringin 및 hesperidin은 흰쥐를 이용한 독성실험에서 급성, 아급성, 만성독성, 생식독성, 돌연변이원성 등이 거의 없는 안전한 화합물로 미국 FDA가 보고하여 많은 식품의약품의 첨가물로 이용되고 있다.

감귤류 플라보노이드의 체내 흡수형태. 감귤류 플라보노이드의 체내 흡수형태를 검토하기 위하여 25세의 건강한 남성에게 naringin 및 hesperidin을 각각 체중 kg당 11 mg씩 2일간 단독 경구 투여한 후 체내 흡수형태를 살피고, 또한 이들 플라보노이드를 함유한 orange 및 grapefruit 주스를 1개월 동안 매일 투여시킨 후 혈액, 뇨, 혈구에서 어떤 형태로 검출되는지를 조사하였다. 그 결과 naringin 및 hesperidin의 단독투여 실험에서는 각각 뇨중에 이들의 aglycone 형태인 naringenin과 hesperetin이 각각 5% 및 3%씩 검출되었다. 그러나 주스로 음용한 후 측정된 결과에서는 naringin 및 hesperidin의 aglycone 형태인 naringenin과 hesperetin이 각각 7% 및 24%가 검출되었다.¹⁵⁾ 또한 혈액과 혈구에서도 aglycone형태인 hesperetin과 naringenin만 검출되었다. 따라서 이러한 결과는 당이 결합된 형태의 플라보노이드가 소화과정에서 가수분해 작용을 받아 당이 유리된 후 그들의 aglycone형태로 흡수되어 혈액, 뇨, 혈구 등에 이동되어 검출되는 것으로 나타났다. 이들을 간략하게 그림으로 나타내면 Fig. 1과 같다.

감귤류 플라보노이드의 임상적 이용. 감귤류는 생식과 주스로 즐겨먹는 과일중의 하나이며, 과피는 건조하여 “진피”로서 한방약에서 사용되고 있다. 이러한 감귤류에는 flavanone 유도체가 많이 함유되어 있으며, 그 대표적인 것이 naringin, hesperidin 등으로 대부분 배당체 형태로 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.²⁾ 감귤류는 세포의 기능장애나 돌연변이를 일으키는 활성산소의 작용을 저지하는 비타민과 플라보노이드와 같은 항산화 성분을 함유하고 있어 식품의 산화방지와 생체의 노화억제 기능이 주목받고 있다. 또한 감귤 과피에 함유된 리모노이드는 감귤류 특유의 쓴맛을 내는 성분으로 암세포 전이 억제와 혈중 콜레스테롤 감소효과가 있는 것으로 확인되었다.¹⁴⁾ 이에 저자 등은 감귤 플라보노이드 중에서 순도 98% 이상의 hesperidin, hesperetin, naringin,

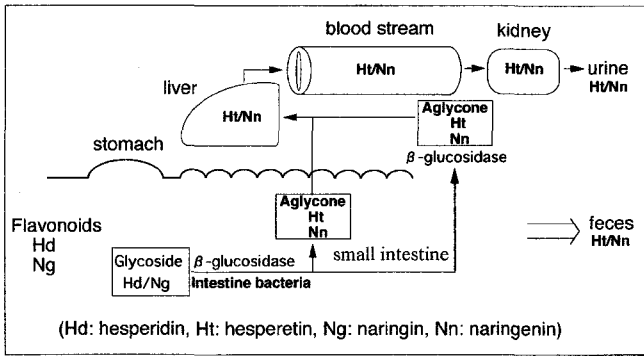


Fig. 1. The digestion and absorption of dietary citrus flavonoids.

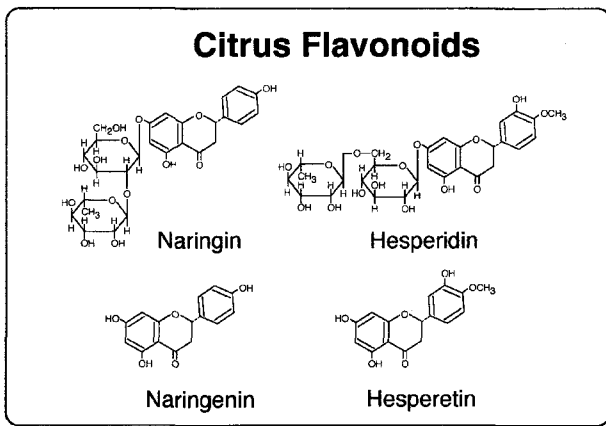


Fig. 2. Chemical structures of citrus flavonoids.

naringenin을 이용하여 흰쥐, 햄스터, 지방간 동물모델, 사람 간 종양 유래 배양 세포주 HepG2 세포의 지질대사 및 그 작용기작과 항산화 작용에 대한 연구결과를 중심으로 정리해 보고자 한다. 이들 감귤 플라보노이드인 hesperidin, hesperetin, naringin, naringenin의 화학 구조식은 Fig. 2와 같다.

혈중 콜레스테롤 농도 상승억제 작용. 지질대사 이상에 의하여 유발된 고지질혈증은 동맥경화증 유발의 3대 위험인자 중의 하나로서 혈청 콜레스테롤 농도와 관동맥경화성 질환과의 사이에 높은 정의 상관관계가 보고되어 있다.¹⁶⁾ 한편, 플라보노이드의 섭취량 증가에 따라 혈청 콜레스테롤 농도가 감소하고, 관동맥질환의 위험인자가 감소하는 보고도 있다.^{5,17)} 따라서, 감귤류 플라보노이드가 지질대사에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하기 위하여 흰쥐 수컷에 콜레스테롤과 함께 hesperidin, naringin 및 이들의 aglycone 형태인 hesperetin, naringenin을 1% 수준으로 식이 중에 각각 첨가하여 3주간 섭취시켰다. 콜레스테롤 섭취에 의한 혈청 콜레스테롤 농도는 이들 플라보노이드의 동시첨가에 의해 현저히 감소하였다(Fig. 3). 한편 HDL-콜레스테롤 농도는 유의적으로 증가하고 동시에 동맥경화 유발에 대한 위험성 지표인 동맥경화 지수(Atherogenic index)는 플라보노이드 식이에서 현저히 저하하였다.¹⁸⁾ 따라서, 감귤류 유래 플라보노이드의 섭취는 동맥경화와 같은 혈관계 질환의 예방과 치료에 유효할 것으로 시사되었다. 감귤류 플라보노이드에 의한 혈중 콜레스테롤 농도의 저하 메커니즘으로서 Fig. 4에서 보는바와 같이 1) 간장에서 콜레스테롤 에스테르 합

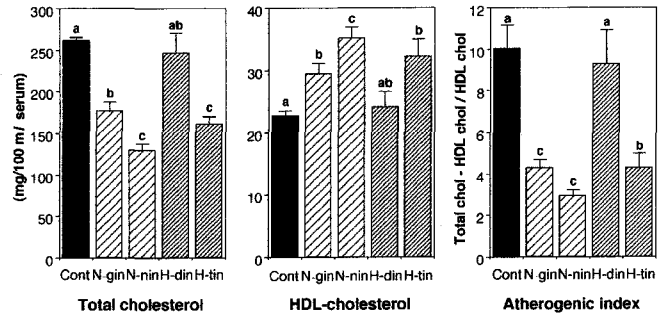


Fig. 3. Effects of citrus flavonoids on the concentration of total cholesterol and HDL-cholesterol in serum and atherogenic index in rats fed a cholesterol-containing diet. Atherogenic index = total cholesterol-HDL cholesterol/HDL cholesterol. Values not sharing the same letter are significantly different at $p < 0.05$. Cont: control, N-gin: naringin, N-nin: naringenin, H-din: hesperidin, H-tin: hesperetin.

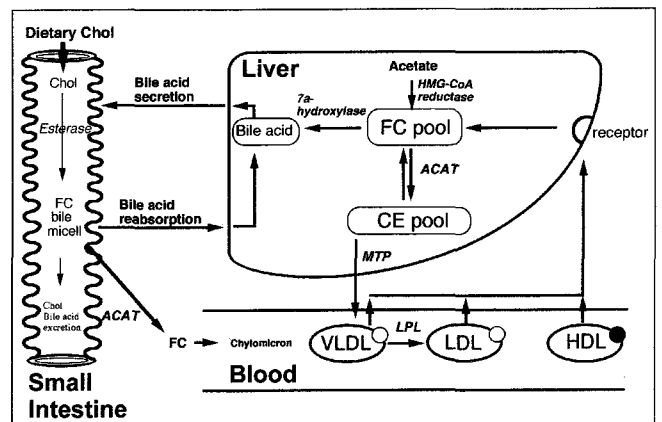


Fig. 4. Metabolism of cholesterol and bile acid. Cho: cholesterol, FC: free cholesterol, CE: ester cholesterol, VLDL: very low density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein, HDL: high density lipoprotein, ACAT: acyl-CoA: cholesterol transferase, MTP: microsomal triglyceride transfer protein, LPL: lipoprotein lipase.

성의 조절효소인 Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase(ACAT)의 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 미셀 중 용해성 저해 및 분변 중으로의 배설 증가가 보고되었다.¹⁸⁻²⁰⁾ 간조직의 콜레스테롤 합성 수준을 조절하는 효소인 HMG-CoA reductase 활성이 대조군에 비해 0.1% 수준으로 식이중에 첨가한 감귤 플라보노이드 hesperidin, hesperetin, naringin 및 naringenin군에서 유의적으로 억제되어 혈중의 콜레스테롤 농도 감소에 영향을 미친 것으로 보고되었다.¹³⁾ 한편, 햄스터에 naringenin 및 hesperetin을 1.0% 수준으로 식이 중에 첨가하여 3주간 섭취시킨 실험에서는 혈중 중성지질의 저하효과가 있었으나, 혈중 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤에는 영향을 미치지 못하였다.²¹⁾ 이상의 실험 결과에서 감귤류 플라보노이드 투여군에서 혈청 콜레스테롤 농도 감소, HDL-콜레스테롤 농도 증가, 간 조직에서의 ACAT 활성 억제에 의한 콜레스테롤 에스테르 감소로 혈중으로의 분비 감소, 분변 중으로의 콜레스테롤 및 담즙산 배설 증가는 콜레스테롤 강하제로 알려진 물질들의 작용기

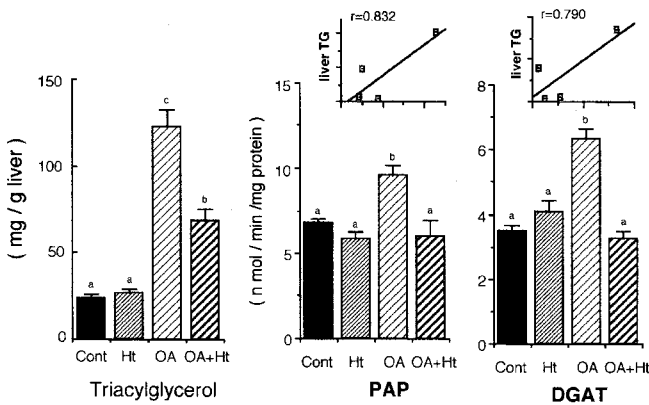


Fig. 5. Effects of hesperetin on the concentration of triglyceride and the activities of phosphatidate phosphohydrolase (PAP) and diglyceride acyltransferase (DGAT) in liver of rats fed orotic acid-containing diet. Values not sharing the same letter are significantly different at $p < 0.05$. Cont: control, Ht: hesperetin, OA: orotic acid.

전과 유사한 것으로 나타났다. 감귤 플라보노이드의 생체조절 기능으로서 혈중 콜레스테롤 및 중성지질 감소효과가 인정되어 혈관계질환의 예방 및 치료에 유용할 것으로 사료되었다.

실험적 유발 지방간 개선작용. 지방간은 지질대사의 이상에 의해 간장에 중성지질이 비정상적으로 축적하는 질환으로서, 피리미딘 염기의 중간대사 산물인 오르토산(orotic acid)의 과잉섭취에 의해 간장에서 중성지질 합성의 증가 및 혈청 지질의 분비 저해에 의해 지방간이 유발되는 것으로 알려져 있다.²²⁾ 이러한 오르토산 유발 지방간에 대한 감귤류 플라보노이드의 한 종류인 hesperetin의 개선작용에 대하여 검토하였다. 성장기 SD 계 숫컷 흰쥐에 표준식(대조군), 오르토산 1% 첨가식, hesperetin 1% 첨가식 및 오르토산 1% + hesperetin 1% 첨가식의 4군으로 나누어 10일간 자유섭취 시켰다. 그 결과, 오르토산 식에서 간장 중성지질 농도는 표준식에 비하여 현저히 증가하여 지방간 유발이 확인되었다(Fig. 5). 오르토산에 의해 유발된 지방간은 hesperetin 동시 투여에 의하여 간장 중성지질 농도가 현저히 감소하여 지방간 개선작용이 나타났다. 이러한 오르토산에 의한 지방간 유발에는 특히 간장의 중성지질 합성의 조절효소로 알려진 phosphatidate phosphohydrolase(PAP)와 diacylglycerol acyltransferase(DGAT) 활성이 깊이 관여하는 것으로 보고된 바 있다.²²⁾ 본 시험에서도 오르토산에 의해 이들 효소 활성이 현저히 증가하여 간장 중성지질 농도 사이에 정의 상관관계(PAP: $r = 0.832$, DGAT: $r = 0.790$)가 성립되어 중성지질 합성 증가가 지방간의 발증 요인으로 나타났으며, hesperetin의 첨가에 의해 PAP 37% 및 DGAT 49% 활성이 저하됨으로써 간장에서의 중성지질 합성이 저하되어 지방간이 개선되었다.²³⁾ 또한 hesperetin은 PAP 활성에 대해 *in vitro* 실험계에서도 첨가농도 의존적으로 억제되었다.²⁴⁾ 그러나 오르토산 투여에 의한 지방간은 마우스에서는 유발되지 않아 실험동물 종간의 차이를 나타내었으며, hesperetin 및 naringenin 첨가에 의해서는 흰쥐에서와 같은 영향은 나타나지 않았다.^{10,25)} 따라서 hesperetin은 오르토산 유발 실험적 지방간에서 간장의 중성지질 합성 효소를 저해함으로써 간장 중성지질 농도를 억제시켜 지방간 개선효과를 나타낸 것으로 사료되었다.

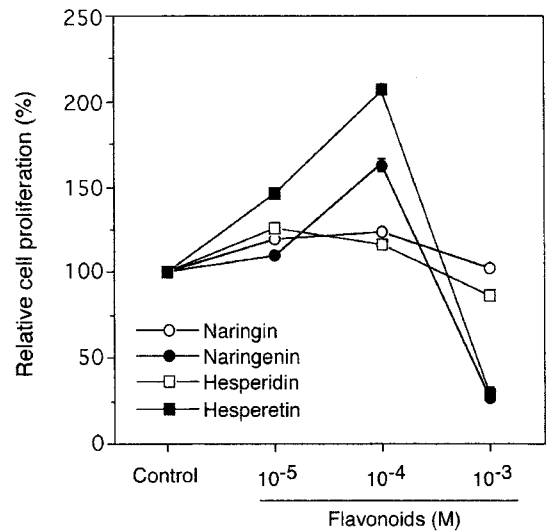


Fig. 6. Effects of citrus flavonoids on the proliferation of HepG2 cells. HepG2 cells were incubated in the medium with or without flavonoids (10^{-5} – 10^{-3} M) for 24 hours and then growth inhibitory effect was monitored by MTT method.

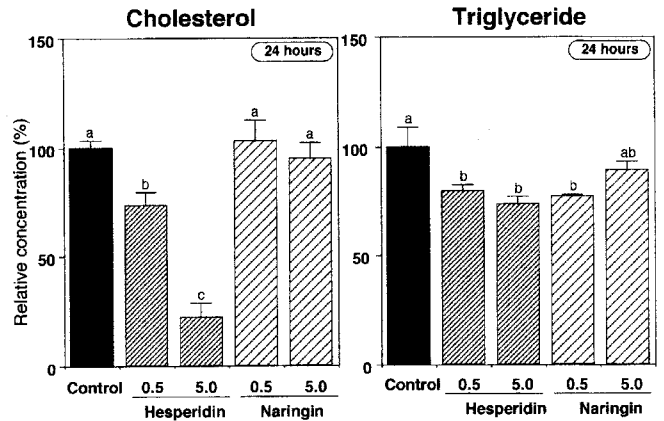


Fig. 7. Effects of hesperidin and naringin on the relative concentration of cholesterol and triglyceride in HepG2 cells. HepG2 cells were incubated in the medium with or without flavonoids (10^{-5} – 10^{-3} M) for 24 hours.

사람 간종양 HepG2 세포의 증식억제 작용 및 지질 저하 작용. 사람 간종양 유래의 배양주인 HepG2 세포의 증식에 미치는 감귤류 플라보노이드의 영향을 MTT(3,4,5-dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide; thiazolyl blue)측정에 의한 세포독성 실험을 통하여 조사하였다. 감귤류 플라보노이드인 hesperidin, hesperetin, naringin 및 naringenin을 dimethyl sulfoxide에 최종농도가 10^{-5} – 10^{-3} 되도록 용해시켜 배지 중에 첨가하여 24시간 배양한 후 MTT 방법으로 세포증식을 검토하였다.²⁶⁾ Hesperetin과 naringenin 10^{-3} M 농도에서 간종양 세포주인 HepG2 세포의 증식이 현저히 억제되었으나,²⁰⁾ 배양체 형태인 hesperidin과 naringin에 의한 현저한 영향은 없었다(Fig. 6). 한편, 감귤류의 배양체 형태인 naringin과 hesperidin의 지질농도에 미치는 연구로서 간배양 HepG2 세포의 배양에 0.5 및 5.0 mg/ml 농도로 첨가하여 24시간 배양한 후 세포내의 콜레스테롤 및 중성지질 농도를 측정하였다. 세포내 콜레스테롤 농도

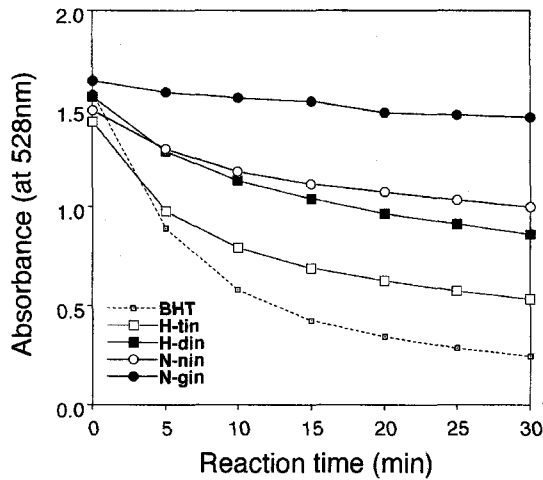


Fig. 8. Effects of citrus flavonoids (0.05%) and BHT (0.05%) on the changes of the free radical level as measured by DPPH method. BHT: butylated hydroxytoluene, H-tin: hesperetin, H-din: hesperidin, N-nin: naringenin, N-gin: naringin.

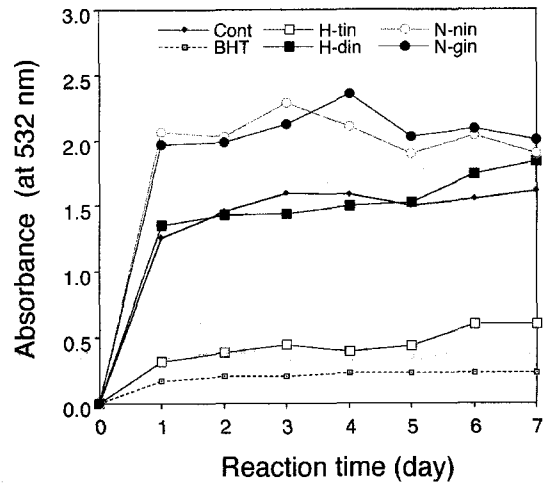


Fig. 9. Antioxidative effects of citrus flavonoids (6.0 mg/ml) and BHT (0.6 mg/ml) in linoleic acid system as measured by thiobarbituric acid method. Cont: control, BHT: butylated hydroxytoluene, H-tin: hesperetin, H-din: hesperidin, N-nin: naringenin, N-gin: naringin.

는 hesperidin의 첨가농도 의존적으로 현저히 감소하였으나, naringin 첨가에 의한 영향은 없었다(Fig. 7). 세포내 중성지질 농도도 hesperidin의 첨가농도 의존적으로 감소하였으나, naringin 첨가에 의해서는 낮은 농도에서만 유의한 감소가 인정되었다.²⁰⁾

감귤 유래 플라보노이드의 항산화 작용. 플라보노이드의 생리활성 작용으로 가장 주목받는 것 중의 하나는 항산화 작용이다. 생체내에서 산화 스트레스에 의해서 과잉으로 생성된 활성 산소 등의 유리기(free radical)는 세포막 인지질의 불포화지방산과 혈중의 지질을 산화시키고 단백질과 핵산에도 장애를 주어 최종적으로는 암을 비롯한 당뇨병, 동맥경화, 허혈성심장질환 및 뇌질환을 유발시키는 것으로 알려져 있다.^{27,28)} 플라보노이드는 유리기에 수소원자를 공여하여 그 생성을 억제시킴으로써 항산화 작용을 발휘하게 된다. 그러나 플라보노이드의 고농도 존재하에서 pH가 높고 철분 성분이 존재할 때는 역으로 활성산소의 공여체로서 작용하기 때문에 일정농도 이상의 과잉섭취는 오히려 인체에 해를 초래하게 된다. 감귤류 유래의 플라보노이드인 hesperetin, hesperidin, naringenin 및 naringin의 항산화 효과를 DPPH(α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl)법, TBA(2-thiobarbituric acid)법 및 microsome 생체막 과산화지질 생성 정도를 malondialdehyde를 측정하는 TBARS법으로 비교하였다. DPPH 측정법에 의한 수소공여능은 hesperetin>naringenin>hesperidin>naringin순으로 나타나, aglycone 플라보노이드에서 비교적 강한 활성을 보였다(Fig. 8). Linoleic acid를 이용한 TBA 측정법 및 microsome 생체막 지질 과산화물 측정법에서도 hesperetin 첨가구에서 가장 강한 항산화 활성을 나타내었다(Fig. 9, 10). 이러한 항산화 활성은 감귤류 플라보노이드 중에서 hesperetin이 가장 높았으며, aglycone 형태인 hesperetin과 naringenin은 그들의 glycoside 형태인 hesperidin과 naringin 보다 높았다.²⁹⁾ 또한 플라보노이드는 과산화 반응을 촉매하는 금속이온을 킬레이트 함으로써 LDL을 비롯한 생체내의 지질과 산화 반응을 억제시킨다. “France paradox”, “Zutphen elderly

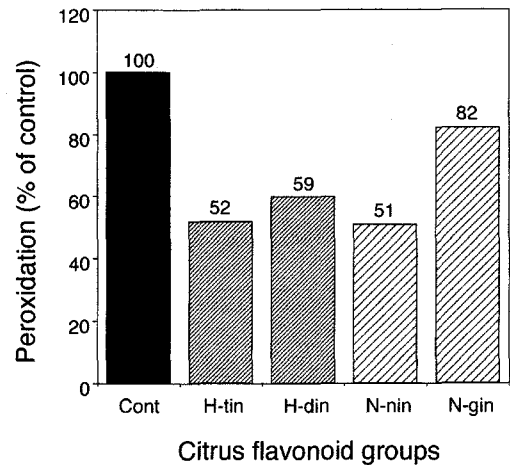


Fig. 10. Antioxidative effects of citrus flavonoids (6.0 mg/ml) in rat hepatic microsomal system as measured by thiobarbituric acid method. Cont: control, H-tin: hesperetin, H-din: hesperidin, N-nin: naringenin, N-gin: naringin.

study”, “Seven country study”에서 플라보노이드 섭취량과 동맥경화성 심장질환에 의한 사망률 사이에 역상관 관계를 나타내어 플라보노이드를 하루 19 mg 이상 섭취하는 사람은 그렇지 못한 사람에 비해 동맥경화성 심장질환에 의한 사망률이 1/3 수준으로 낮아지는 것으로 보고되었다.^{5,17,30)} 따라서 감귤 플라보노이드의 섭취는 혈중 콜레스테롤 농도를 저하시킴과 동시에 생체내 지질 과산화를 억제시켜 동맥경화 유발을 억제시킴으로써 혈관계질환을 예방할 수 있을 것으로 사료되었다.

감귤 플라보노이드의 산화 스트레스 억제효과. 당뇨병에서 발생하는 산화 스트레스는 지질, 단백질 및 핵산을 산화시켜 신장 기능 장애와 백내장과 같은 합병증을 일으키는데 주요한 역할을 하는 것으로 전해지고 있다. 생체내 산화 스트레스 조건하에서 활성산소에 의해 DNA가 산화장애를 받게되면 2-deoxyguanosine이 8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)으로 산화

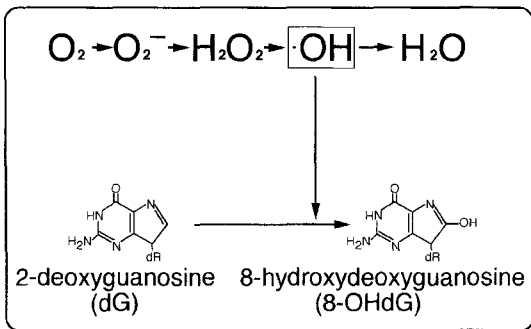


Fig. 11. Production of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), a biomarker of DNA oxidative stress, by oxygen radical.

되어 노중으로 배설되는데, 이는 생체내의 산화장애를 나타내는 biomarker로 이용되고 있다(Fig. 11). 정상쥐에 비교해 streptozotocine 유발 실험적 당뇨쥐에서 노중 8-OHdG 량이 현저히 증가하여 당뇨병 상태에서는 생체내의 산화스트레스를 받아 DNA가 산화되는 것으로 보고된 바 있다.³¹⁾ 그러나 0.2% 수준의 hesperidin을 첨가시킨 실험식을 섭취시킨 당뇨쥐에서는 이러한 증가가 유의적으로 억제되었다. 따라서 경구투여한 감귤 플라보노이드인 hesperidin은 생체내의 산화 스트레스를 효과적으로 억제시키는 작용이 있는 것으로 시사되었다.

결 론

이상의 결과에서 감귤류 유래 플라보노이드는 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 억제작용에 의한 혈관계 질환 개선효과, 지방간을 비롯한 간질환 개선효과, 암세포 증식억제에 의한 항암작용, 노화 및 질병의 원인이 되는 생체내 지질 과산화를 억제하는 항산화 작용 등 건강에 관련된 다양한 생리기능 활성이 존재하는 것을 확인하여 기능성 성분의 연구로 일정한 효과를 얻었다. 우리나라에서 생산되고 있는 과일 중에서 생산량이 가장 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 출원 중에 있다. 감귤 가공시 부산물로 생성되는 과피는 일부만 한약재로 사용되어 왔고 최근 기능성음료 등에 사용하고자 하는 시도가 있지만 대부분의 과피는 과실 가공시 폐기물로 처리되고 있는 실정이다. 따라서 이러한 감귤류 유래의 생리활성 성분의 연구를 통하여 건강증진 효과가 높은 식품의 판매촉진과, 기능성 성분을 보다 정제하여 건강증진 효과를 높이는 식품의 개발 및 식품 첨가물의 신규 수요 증대 등의 효과를 기대할 수 있다.

참고문헌

1. Kuhnan, J. (1976) In *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) In *Flavonoids in the human diet. In Plant Flavonoids in Biology and Medicine, Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationship*. Liss, Alan R., New York, USA, pp. 125-140.

3. 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.

4. Jeong, W. S., Park, S. W. and Chung, S. K. (1997) The antioxidative activity of Korean *Citrus unshiu* peels. *Foods Biotechnol.* **6**, 292-296.

5. Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B. and Kromhout, D. (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease the Zutphen Elderly Study. *Lancet* **342**, 1007-1011.

6. 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.

7. 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.

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 hypercholesterolemia in rat. *Farmacol.* **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. 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.

12. Koh, J. S. and Kim, S. H. (1995) Physicochemical properties and chemical compositions of citrus fruits produced in Cheju. *Agric. Chem. Biotechnol.* **38**, 541-545.

13. Bok, S. H., Lee, S. H., Yark, Y. B., Bae, K. H., Son, K. H., Jeong, T. S. and Choi, M. S. (1999) Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *J. Nutr.* **127**, 1282-1285.

14. Kunizane, H., Ueda, H. and Yamazaki, M. (1995) Screening of phagocyte activities in plant; enhancement of TNF production by flavonoids. *Yakugaku Zasshi* **115**, 749-755.

15. Ameer, B., Weintraub R. and Johnson, J. (1995) Metabolism of naringin and hesperidin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **57**, 186.

16. Manninen, V., Tenkanen, L., Koskinen, P., Huttunen, J. K., Manntari, M., Heinonen, O. P. and Frick, M. H. (1992) Triglycerides and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. *Circulation* **85**, 37-45.

17. Renand, S. and de Lorgeril, M. (1992) Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* **339**, 1523-1526.

18. Cha, J. Y., Mameda, Y., Furukawa, J., Rahman, M., Anno, N.

- and Yanagita, T. (1997) In *Preventive effect of hesperetin on orotic acid-induced fatty liver. 51th annual Meeting of Japanese Society of Nutrition and Food Science*. Tokyo, Japan, pp. 114.
19. Yotsumoto, H., Yanagita, T., Yamamoto, K., Ogawa, Y., Cha, J. Y. and Mori, Y. (1997) Inhibitory effect 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.
 20. 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.
 21. Cha, J. Y., Lee, J. W., Lee, Y. C. and Cho, Y. S. (2000) Effects of citrus aglycone flavonoids, hesperetin and naringenin, on triacylglycerol metabolism in hamsters fed with a cholesterol diet. *Inter. J. Oriental Med.* **1**, 28-36.
 22. Cha, J. Y., Mameda, Y., Oogami, K., Yamamoto, K. and Yanagita, T. (1998) Association between hepatic triacylglycerol accumulation induced by administering orotic acid and enhanced phosphatidate phosphohydrolase activity in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 508-513.
 23. Cha, J. Y., Cho, Y. S., Kim, I. S., Anno, N., Rahman, S. H. and Yanagita, T. (2001) Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. *Plant Food Human Nutr.* **56**, 1-10.
 24. 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.
 25. Cho, Y. S. and Cha, J. Y. (1996) Effect of dietary orotic acid on triacylglycerol metabolism in rats and mice. *Korean J. Life Science* **6**, 159-164.
 26. 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 cytotoxicity assays. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **56**, 1472-1473.
 27. Plaa, G. L. and Witschi, H. (1976) Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125-131.
 28. Wong, S. F., Holliwell, B., Richmond, R. and Skowronek, 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.
 29. Cha, J. Y., Kim, H. J., Kim, S. K., Lee, Y. J. and Cho, Y. S. (2000) Effects of citrus flavonoids on the lipid peroxidation contents. *Korean J. Posthavest. Sci. Technol.* **7**, 211-217.
 30. 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.
 31. Miyake, Y., Yamamoto, K., Tsujihara, N. and Osawa, T. (1998) Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids* **33**, 689-695.

Biofunctional Activities of Citrus Flavonoids

Jae Young Cha and Young Su Cho* (*Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea*)

Abstract : This review showed a discussion on the biofunctional activities of citrus flavonoids. The major flavonoids of citrus species, hesperidin, hesperetin, naringin, and naringenin, were selected to evaluate their biological effects on the lipid metabolism in rats and hamsters, the proliferation of human hepatocyte HepG2 cells, and the antioxidative effect in lipid peroxidation models. These flavonoids showed hypotriglyceridemic effect in hamsters and hypocholesterolemic effect in rats. They also significantly inhibited the activities of phosphatidate phosphohydrolase and acyl-CoA: cholesterol acyltransferase, which are key enzymes for biosynthesis of triglyceride and cholesterol, respectively, *in vivo* and *in vitro* experiments. These biofunctional activities by citrus flavonoids were shown more potent in the aglycone flavonoids, hesperetin and naringenin, than their corresponding glycoside flavonoids, hesperidin and naringin. These aglycone flavonoids also have inhibitory effects on proliferation of human hepatocyte cancer HepG2 cells. Hesperidin showed lowering activities of cellular triglyceride and cholesterol concentrations in HepG2 cells. Citrus flavonoids have significant importance in functional food industry as biofunctional active ingredients.

Key words : citrus flavonoid, hesperetin, hypocholesterolemic effect, antioxidation, biofunctional activity.

*Corresponding author