

## 제주자생 진귤(*Citrus sunki* Hort. Tanaka) 과피의 생리활성

강신해<sup>1</sup> · 이영재<sup>2</sup> · 이창홍<sup>3</sup> · 김세재<sup>1</sup> · 이대호<sup>4</sup> · 이영기<sup>4</sup> · 박덕배<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>제주대학교 생명과학기술혁신센터, <sup>2</sup>제주대학교 수의학과, <sup>3</sup>(사)EM환경센터, <sup>4</sup>제주대학교 의학과

### Physiological Activities of Peel of Jeju-indigenous *Citrus sunki* Hort. Tanaka

Shin-Hae Kang<sup>1</sup>, Young-Jae Lee<sup>2</sup>, Chang-Hong Lee<sup>3</sup>, Se-Jae Kim<sup>1</sup>,  
Dae-Ho Lee<sup>4</sup>, Young-Ki Lee<sup>4</sup>, and Deok-Bae Park<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>Technology Innovation Center for Life Science, Cheju National University

<sup>2</sup>Department of Veterinary Medicine, Cheju National University

<sup>3</sup>Center for Effective Microorganisms, Jeju

<sup>4</sup>Department of Medicine, Cheju National University

Effects of *Citrus sunki* peel and its fermented product extracts on physiological and functional activities of cellular systems were investigated. Ethanol extract of *Citrus sunki* peel showed potent ROS-scavenging activity using 2',7'-Dichlorofluorescein diacetate as a fluorescent ROS probe in HepG2 cells. Fermented product of *C. sunki* peel extract markedly suppressed nitric oxide production in lipopolysaccharide (LPS)-activated RAW264.7 murine macrophage cells. Treatment with fermented product of *C. sunki* peel extract decreased intracellular protein levels of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase II stimulated by LPS. High doses of fermented product lead to apoptotic cell death in CHO-IR cells.

**Key words:** *Citrus sunki*, fermentation, ROS, inflammation, apoptosis

## 서 론

고려사기의 기록에 따르면 백제 문주왕 시대에 제주도의 감귤이 공물로 헌상되었다는 내용으로 보아 그 이전부터 제주도에 재래종 감귤이 재배되었음을 알 수 있는데 현재까지 이들에 대한 식물분류학적 분석은 충분하지 못하다. 현재 제주도에 서 대표적인 과실로 재배되고 있는 것은 20세기 초 일본으로부터 도입된 온주밀감류가 대부분이며, 재래 감귤로는 12종이 자생하고 있는 것으로 확인되어 있는데, 제주자생 재래감귤종 진귤(*Citrus sunki* Hort. ex Tanaka)은 제주지역에서 “산물”로 불리는 것으로 다른 이름으로는 산귤로 불리기도 한다(1). 진귤의 과피를 건조시킨 것을 진피라 부르는데 한의학에서는 없어서는 안될 필수적인 한약재로 사용하여 왔으나, 최근에는 일반 온주밀감의 건조과피를 진피로 잘못 인식하여 한약재로 사용하고 있어 이를 바로잡을 필요가 있다. 진귤등의 재래감귤류와 온주밀감류는 모두 분류학상으로는 Citrus 속에 해당되며 최근 성분조사, 생리활성에 관한 연구들이 활발하게 진행되고 있다.

특히 과피의 기능성에 대한 관심들이 집중되어 있는데 예를 들면 항염작용 및 설사억제효능(2,3), 항알러지효과(4,5), 대식세포의 활성화(6,7)들과 같은 약리활성들이 보고된 바 있다. 그러나 전통적으로 대표적인 한약재로 사용되어진 진귤의 과피, 즉 진피를 대상으로 한 연구결과는 아직 알려져 있지 않다.

본 연구에서는 제주에서 자생하는 감귤류의 하나이며 중요한 한약소재인 진귤의 과피(진피) 성분이 어떤 생리활성을 가지고 있는지를 분석하고자 하였다. 또한 생산시기에 따른 원료공급기간의 한계, 보존 및 가공의 어려움을 극복하고 안정적인 가공식품으로 개발하기 위한 방법의 하나로 진피추출물을 식품미생물로 발효시키는 과정이 진피가 가진 원래의 생리활성에 어떠한 변화를 가져오는지를 탐색하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

제주지역에서 2002년 2월부터 2003년 1월까지 친환경재배법으로 재배된 진귤을 구입하여 사용하였다. 벗겨낸 진피를 충분히 건조시킨 후 분쇄하여 얻은 분말시료(100 g)를 80% 에탄올 1 L로 설온에서 7일간 추출한 후 Whatmann GF/C filter로 여과하여 상등액을 얻은 후 회전 농축기로 에탄올을 제거하고 남은 수층 시료를 진공 동결건조하여 추출시료를 얻고 밀봉하여 냉동보관하였다.

\*Corresponding author: Deok-Bae Park, Department of Medicine, Cheju National University, Ara-1, Jeju, Jeju, 690-756, Korea  
Tel: 82-64-754-3827  
Fax: 82-64-725-2593  
E-mail: parkdb@cheju.ac.kr

발효과정은 진피추출시료와 동량(w/w)의 물과 5%(w/w) 설탕을 첨가하고 NaOH로 pH를 7.0으로 조절한 후 가압멸균(120°C, 25 min)하였다. 젖산균(*Lactobacillus plantarum* ATCC8014)은 MRS 배지에서 38°C, 3일간 혐기, 정치배양하였고, 효모(*Saccharomyces cerevisiae* IFO 0203)는 YM 배지에서 25°C, 5일간 호기, 교반배양하였다. 각 배양액을 혼합하여(젖산균  $3 \times 10^6$  cells/mL; 효모  $4 \times 10^6$  cells/mL) 전체 배지의 5%(w/v)로 집중하고 당밀을 3%(w/v) 첨가한 후 38°C에서 7일간 혐기배양하였다. 배양이 완료된 발효액은 급속냉동후 동결건조하고 건식분쇄기로 분말화하였다. 발효분말의 용매추출(butanol, hexane, chloroform, ethylacetate)은 Yoo와 Hwang(8)의 방법에 따라 수행하였다. 실험에 사용된 시약은 별도로 표시된 것 외에는 모두 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

### 자유유리기 소거능 측정

Blios(9)의 방법에 따라 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)를 사용하여 자유유리기(free radicals) 소거능을 측정하였다. 20 mM DPPH 용액에 동량의 측정시료를 넣고 혼합하여 10분간 방치한 후 525 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 자유유리기 소거능은  $\{1 - (\text{측정시료군의 흡광도} / \text{무첨가군 흡광도})\} \times 100(\%)$ 으로 표시하였다.

### 세포배양

본 연구에서는 간암세포주인 HepG2, 대식세포주의 하나인 Raw264.7 세포 및 chinese hamster ovary(CHO) 세포들을 한국 세포주은행(서울)로부터 공여받아 사용하였다. HepG2 및 Raw264.7 세포는 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin, 10% 우태아혈청(fetal bovine serum)이 포함된 Dulbecco's Minimal Essential Medium(D-Mem) 액을, CHO 세포는 Ham's F-12 배양액을 사용하였으며 5% CO<sub>2</sub> 및 37°C가 유지되는 배양기에서 배양되었다. 세포는 T75 배양용기에서 배양된 후 우태아혈청이 제거된 serum-free 배양액에서 일정시간동안 전배양(serum-starvation)하고 난 뒤 시료의 처리실험에 사용하였다.

### 배양세포내 활성산소물질(Reactive Oxygen Species, ROS)의 측정

ROS의 측정을 위해서 세포막 투과성 ROS 탐색자(probe)인 2',7'-dichlorofluorescein diacetate(H<sub>2</sub>DCFDA)를 사용하여 세포질내 ROS의 생성과 축적을 측정하였다(10). 배양이 끝난 세포를 PBS로 세척한 후 10 mM의 H<sub>2</sub>DCFDA를 함유한 PBS에서 37°C, 10분간 배양한 후 multiwell 형광측정기(Tecan, Austria)를 이용하여 485nm/535nm의 파장에서 형광의 강도를 측정하였다.

### Nitric oxide (NO) 측정

Raw264.7 세포로부터 생성된 NO의 배양액내 농도는 Sigma사의 Griess reagent(11)를 사용하여 측정하였다. 표준용액 및 배양액을 동량의 Griess reagent를 섞어 10분간 반응시킨 뒤 ELISA reader(Tecan, Austria)를 사용하여 570 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

### Lactate dehydrogenase(LDH) 활성도 측정

세포에 대한 비특이적(nonspecific) 상해의 지표가 되는 LDH 활성도를 측정하여 시료가 배양세포에 독성을 나타내는 지를 조사하였다. 시료처리가 끝난 세포배양액과 LDH assay reagent(Takara, Japan)를 각각 0.1 mL씩 섞어 10분간 상온에서

반응시킨 뒤 492 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이때 기저흡광도는 배양에 사용하지 않은 배양액으로부터 측정하였고 각 실험군의 흡광도로부터 기저흡광도를 제한 값을 실제 LDH 활성도로 계산하였다.

### MTT assay

세포독성 또는 세포의 생존능은 mitochondria의 활성을 측정하기 위하여 MTT 측정법을 사용하였다(12). 시료의 처리가 끝난 뒤 세포배양액과 동량의 MTT reagent(1 mg/mL in D-Mem)를 섞어 37°C에서 30분 동안 더 배양한 후 상층액을 제거하고 200 µL isopropanol을 넣어 발색반응을 유도하였으며 흡광도는 570-690 nm에서 측정하였다.

### H333342 염색

세포의 생존, 또는 세포사멸 여부를 조사하는 또다른 방법으로 세포내 DNA특이적인 형광색소인 H333342를 최종농도가 1 µg/mL이 되도록 배양중인 세포에 투여하고 37°C에서 30분간 배양 후 CoolSNAP-Pro color digital camera(Media Cybernetics, Houston, TX, USA)가 장착된 형광현미경 아래에서 관찰하였다(10). 세포핵의 응축정도와 apoptotic body의 형성 여부를 관찰하여 세포의 생존 또는 세포사멸의 지표로 삼았다.

### 전기영동 및 Western blot 분석

배양이 끝난 세포를 직접 5%의 2-mercaptoethanol을 포함한 cell lysis buffer (13)에 녹여 균질화시켰다. 70°C에서 10분간 가열하고 4-12%의 polyacrylamid gel에 전기영동하고 poly(vinylidene difluoride, PVDF)에 흡착시켰다. PVDF membrane을 blocking buffer(Tris-buffered saline-0.1% (w/v) Tween-20, TBS-T)으로 상온에서 1시간동안 반응시키고 난 뒤 여러 가지 1차 항체(1:1000-1:3000)가 들어있는 TBS-T에서 1시간(25°C) 또는 16시간(4°C) 동안 반응시켰다. TBS-T로 3회 세척하고 HRP-conjugated 2차 항체와 상온에서 30분 반응시킨 뒤 Enhanced Chemiluminescence(ECL) 방법으로 각 band의 영상을 얻었다.

## 결과 및 고찰

### 진귤과피추출물의 항산화작용

Citrus속 식물의 과피는 오랫동안 생약으로 사용되어 왔으며 특히 진귤의 과피인 진피는 한약재의 구성성분에서 매우 중요한 약재성분으로 인정되어 왔으나 현대 약리학적 측면에서의 활성은 알려져 있지 않다. 최근 제주재래종 감귤류 미숙과에 포함되어 있는 flavonoids의 함량에 대한 연구결과가 보고되었고(14), 또한 이들 flavonoids들은 대부분 감귤류의 과피에 포함되어 있는 반면 과육에는 소량만이 포함되어 있는 것으로 알려져 있다(15). 감귤류 flavonoids의 항산화 작용은 주로 DPPH 소거능 측정과 같은 화학적분석 방법과 malondialdehyde를 측정하는 TBARS법들에 의해 주로 측정되고 있으나 세포수준에서 직접 항산화작용을 하는 지에 대한 연구결과들은 잘 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 배양중인 HepG2 세포에 강력한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 일종인 과산화수소(hydrogen peroxide)를 처리하고 동시에 진피추출물을 더하여 세포내 ROS의 함량이 실제로 변화하는 지를 조사하였다. 배양중인 HepG2 세포를 혈청을 제거한 배양액에 3시간 동안 전배양하고 난 뒤 진귤과피추출물을 30분 동안 전처리하고 이어 10 mM의 과산화수소(hydrogen peroxide, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)와 활성산소종 형광

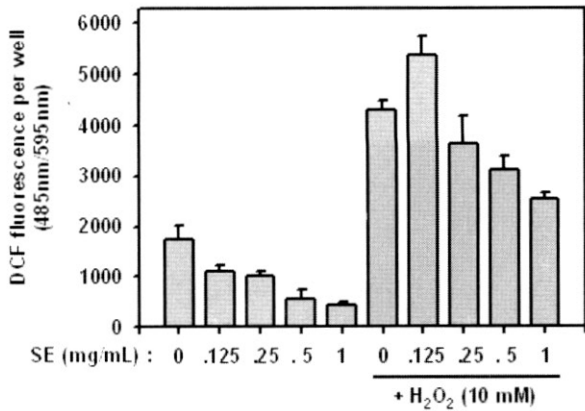


Fig. 1. ROS-scavenging activity of *Citrus sunki* extract (SE) in HepG2 cells. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. (n=3-4).

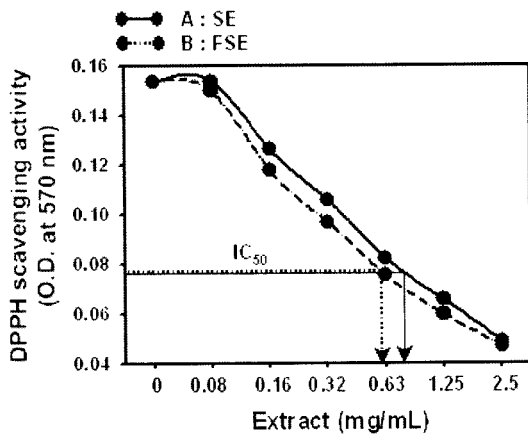


Fig. 2. DPPH scavenging activity of *Citrus sunki* peel extract (SE) and its fermented product (FSE).

표지자인 H<sub>2</sub>DCFDA(10 mM)를 더하였다. 15분 후에 H<sub>2</sub>DCFDA가 ROS의존적으로 가수분해되면서 발생하는 형광의 광도로 진귤과피의 항산화활성을 조사한 결과 기저수준의 ROS뿐 아니라 과산화수소의 첨가로 증가된 세포내 ROS의 함량은 진귤과피추출물의 병행처리에 의해 농도의존적으로 감소하였다(Fig. 1). 또한 DPPH 소거능 측정법으로 발효과정 전후의 진귤추출물의 항산화활성을 비교하였다(Fig. 2). 유효소거능을 50% 억제농도로 비교하였을 경우 발효과정을 거친 진귤추출물의 활성이 발효전에 비하여 뚜렷하게 증가함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 진귤성분이 세포수준에서 직접 생화학적 항산화과정을 거쳐 산화스트레스를 극복하며 특히 발효과정 후에 이러한 생리적 기능이 더욱 증강되었음을 의미하는 것이다.

**진피과피추출물의 항염증활성**

제주지역의 오랜 민간요법으로 진피는 호흡기계의 감염이나 이로부터 수반되는 염증반응을 완화하는데 효과가 있는 것으로 구전되어오고 있다. 이러한 사실에 근거한 약리학적 활성을 규명하기 위해 진피추출물이 염증작용의 체내 매개체인 nitric oxide synthase-2(NOS2) 및 cyclooxygenase-2(Cox-2)의 단백질 함량을 변화시키는 지를 이들 단백질에 대한 immunoblotting 방법으로 조사하였다(Fig. 3). 대식세포주인 Raw264.7 세포를 혈청을 제거한 배양액에 3시간동안 전배양하고 난뒤 진피추출물(*Citrus sunki* peel extract, SE) 또는 진피발효추출물(fermented

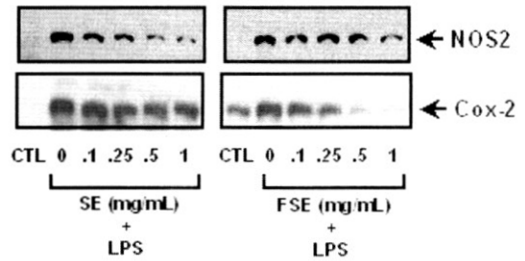


Fig. 3. Suppression of pro-inflammatory mediators by *Citrus sunki* peel extract (SE) and its fermented product (FSE) in murine macrophage Raw264.7 cells. CTL: control (0.1% DMSO), LPS (100 ng/mL).

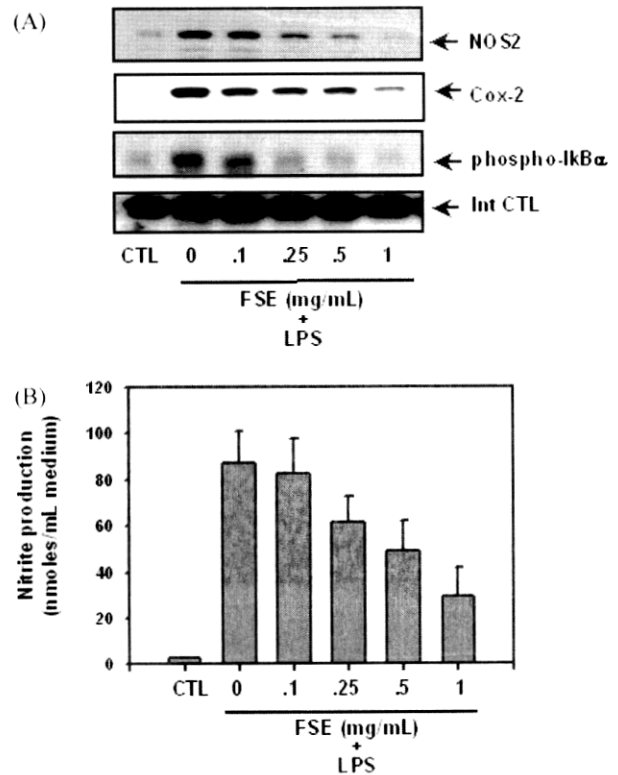
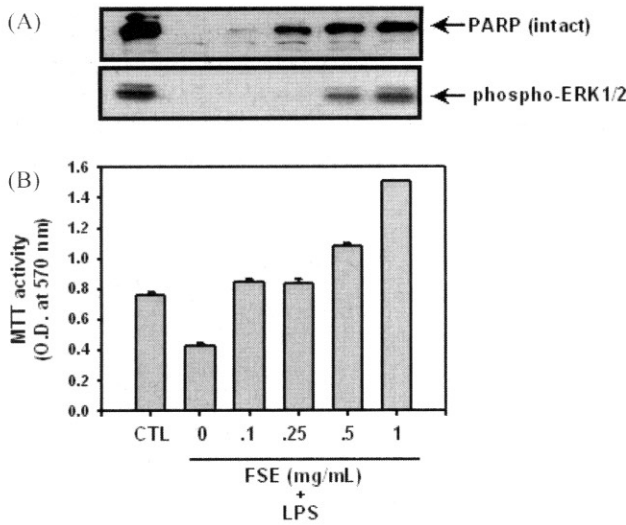
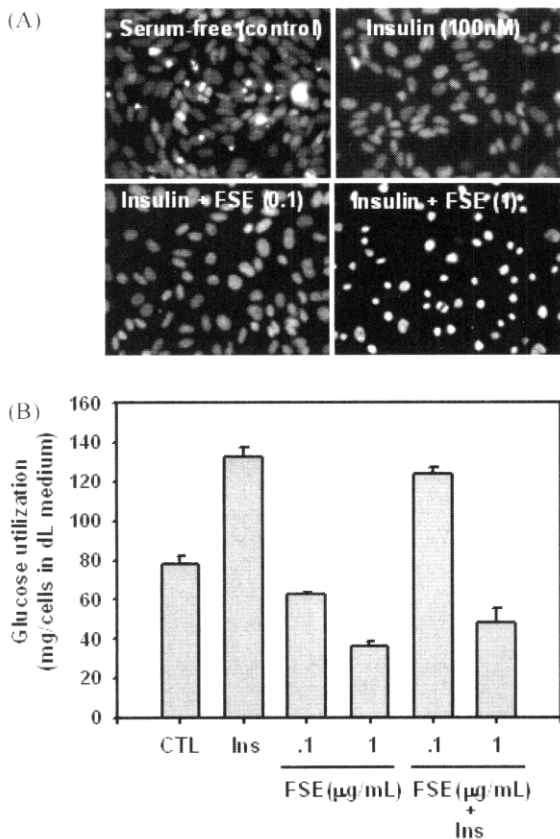


Fig. 4. Inhibition of nitric oxide production and pro-inflammatory mediators by fermented product of *Citrus sunki* peel extract (FSE) in murine macrophage Raw264.7 cells. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. (n=3-4). CTL: control (0.1% DMSO), LPS (100 ng/mL).

SE, FSE)를 30분간 전처리후 bacteria(*E. coli*)의 endotoxin인 lipopolysaccharide(LPS)를 처리하고 24시간 동안 계속 배양하였다. 그 결과, LPS 처리에 의해 증가된 NOS2 단백질은 발효과정 전후의 진피추출물 처리로 농도의존적인 감소현상을 보였고 특히, 염증반응을 직접 유발하는 효소단백질인 Cox-2 단백질의 증가는 진피발효추출물의 처리로 더욱 뚜렷하게 감소하였다. 이러한 결과는 발효과정을 거친 진피추출물이 강력한 항염증효과를 유발할 것이라는 일차적인 증거가 되는데 이러한 결과를 보다 분명히 증명하기 위하여 동일 실험모델에서 염증 유발반응의 초기현상인 I $\kappa$ B- $\alpha$  단백질의 인산화, 세포배양액 내 NO의 함량이 변화하는 지를 측정하였다(Fig. 4). Raw264.7 세포를 혈청제거 배양액에 3시간 동안 전배양후 진피발효추출물(FSE)를 30분간 전처리하였으며 LPS를 각각 15분 또는 24

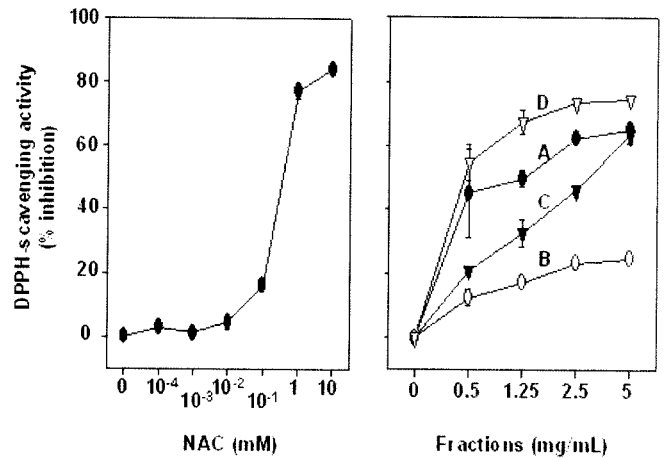


**Fig. 5. Protection of Raw264.7 cells from apoptotic cell death induced by a prolonged exposure (48 hr) to LPS by fermented product of *Citrus sunki* peel extract (FSE).** Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. (n=3-4) (B). CTL: control (0.1% DMSO), LPS (100 ng/mL).

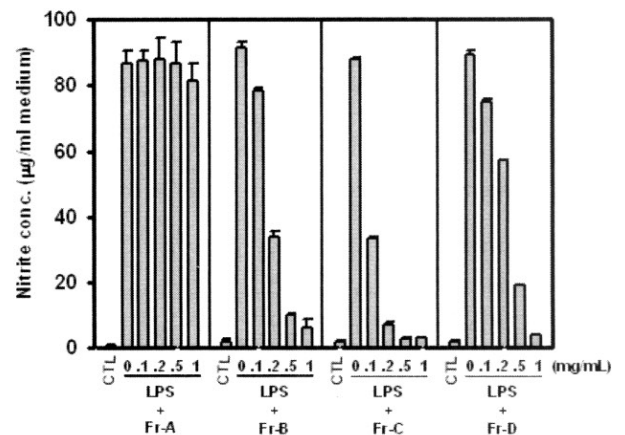


**Fig. 6. Fermented product of *Citrus sunki* induces apoptotic death of CHO-IR cells. Cultured cells were stained with H33342, a DNA-specific fluorescent dye to visualize apoptotic cell nuclei, or nuclear condensation (A).** Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. (n=3-4) (B). CTL: control (0.1% DMSO), Ins (insulin, 100 nM).

시간동안 처리하였다. LPS 처리로 Raw264.7 세포내 IκB-α 단백질의 인산화(15분 처리군)가 증가하고 배양액내 NO의 농도

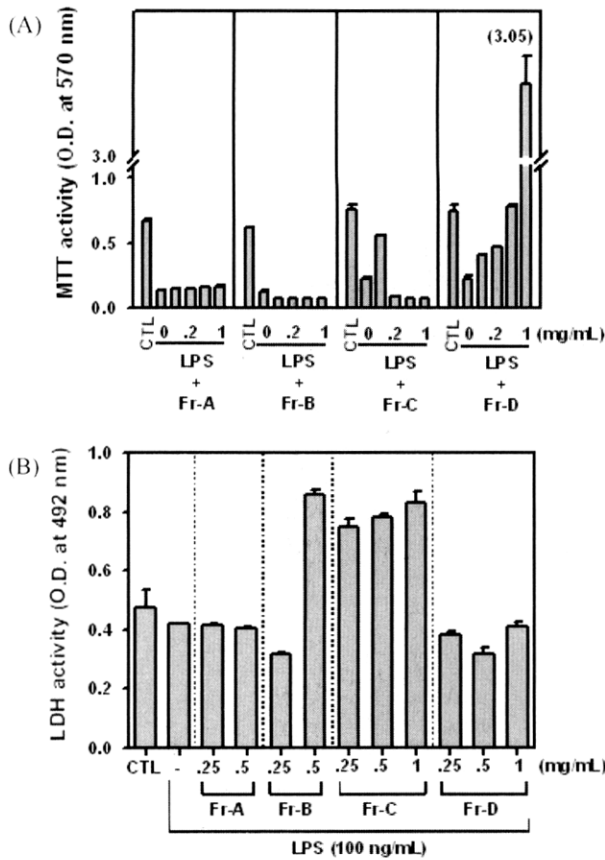


**Fig. 7. DPPH-scavenging activity of different extracts of fermented product of *Citrus sunki* peel.** A: butanol, B: hexane, C: CHCl<sub>3</sub>, D: ethyl acetate.



**Fig. 8. Suppression of nitric oxide production by different extracts of fermented product of *Citrus sunki* peel.** Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. (n=3-4). CTL: control (0.1% DMSO), LPS (100 ng/mL). A: butanol, B: hexane, C: CHCl<sub>3</sub>, D: ethyl acetate.

및 NOS2, Cox-2 단백질 수준이 급격히 증가(24시간 처리군)하였는데 발효를 거친 진피추출물을 처리하면 이러한 증가들이 농도의존적으로 감소하였다. 이러한 실험조건에서 진피발효추출물의 처리는 비특이적 세포독성의 지표인 LDH 활성을 증가시키지 않았으며 세포의 정상적인 영양대사를 보여주는 포도당이용 활성에도 변화를 일으키지 않았다(결과 표시하지 않음). 그러나 LPS를 장기간(2일 이상) 처리하면 Raw264.7 세포는 LPS의 독성을 극복하지 못하고 세포사멸과정을 일으키는 것으로 알려져 있다(16). 본 실험에서도 LPS를 48시간 동안 처리하면 Raw264.7 세포에서 세포사멸의 대표적 지표중 하나인 poly(ADP-ribose) polymerase(PARP)의 가수분해가 나타나며 MTT 측정결과에서도 세포생존능이 감소하였다(Fig. 5). 그러나 LPS 와 함께 진피발효추출물을 48시간동안 병행처리할 경우 PARP의 가수분해가 억제되었으며 세포생존능도 증가하였다. 이러한 결과들을 종합하면 진피발효추출물은 대식세포의 LPS 유발 염증활성을 강력하게 억제하는 효능을 가지고 있으며 또한 대식세포가 LPS 독성을 극복하여 세포사멸현상을 회피하도록 하는 세포생존능도 증가시키는 것으로 판단된다.



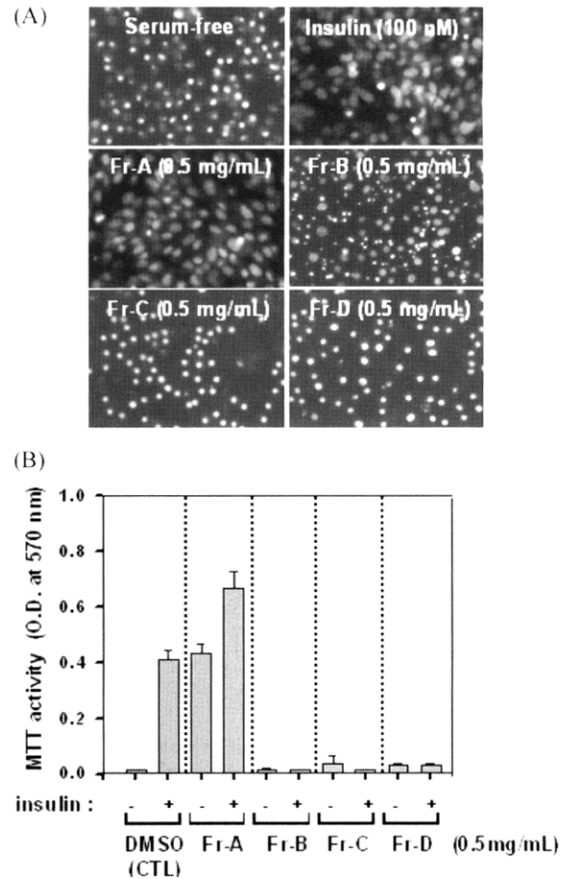
**Fig. 9.** Effects of different extracts of fermented product of *Citrus sunki* peel on viability of Raw264.7 cells. Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. (n=3-4). CTL: control (0.1% DMSO), LPS (100 ng/mL). A: butanol, B: hexane, C: CHCl<sub>3</sub>, D: ethyl acetate.

**진피발효추출물의 세포사멸 유발효과**

Citrus속 식물들에 함유되어 있는 flavonoids는 항산화활성 뿐 아니라 종양세포의 증식을 억제하는 것으로도 보고되었다(17). 또한 종양세포에 대한 세포사멸 유발효과는 자유유리기 소거활성과 함께 커진다는 견해도 논의된 바 있다(8). 본 실험에서도 우수한 항산화활성을 가진 것으로 확인된 진피발효추출물이 세포사멸 유발효과를 가지고 있는지를 조사하였다. CHO-IR 세포는 영양결핍성 배양에서의 배양으로 세포사멸이 유발되며 인슐린치리에 따른 인슐린수용체의 활성화는 영양결핍성 세포사멸을 억제한다(18). 진피발효추출물을 영양결핍배지에서 배양중인 CHO-IR 세포에 24시간 동안 단독처리 하였을 때 고농도(1 mg/mL) 처리군에서 영양결핍성 세포사멸 현상이 가속되었으며 인슐린의 세포사멸 억제효과도 저해되었다(Fig. 6). 이러한 세포사멸 유발효과는 사람의 간암세포주인 HepG2 세포에서도 유사하게 나타났다(결과 표시하지 않음). 그러나 이러한 세포사멸 유발효과는 고농도의 처리군에서만 보여지며 저농도의 진피발효추출물 처리군에서는 분명하지 않았다. 아직, 동일 실험조건에서 항산화활성의 정도와 종양세포 증식억제효과 사이의 자세한 기전은 알려지고 있지 않으며 여러 다양한 실험 조건에서 검증되어야 할 것으로 사료된다.

**용매분획추출물의 활성**

앞의 결과에서 진피발효추출물의 항산화, 항염증, 세포증식



**Fig. 10.** Effects of different extracts of fermented product of *Citrus sunki* peel on viability of CHO-IR cells. Cultured cells were stained with H33342, a DNA-specific fluorescent dye to visualize apoptotic cell nuclei, or nuclear condensation (A). Each bar represents the mean  $\pm$  S.E. (n=3-4) (B). A: butanol, B: hexane, C: CHCl<sub>3</sub>, D: ethyl acetate.

억제 효과가 보여졌으나 추출물의 어떤 구성성분이 이러한 역할을 담당하는지를 알기 위해서는 단계별 분획, 순수정제과정을 거친 성분들의 활성을 세밀하게 분석하여야 한다. 본 실험에서도 진피발효추출물을 부탄올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트의 분획추출물을 얻어 각각의 활성을 조사하였다. DPPH 소거활성의 경우 에틸아세테이트 분획에서 가장 우수한 소거능이 관찰되었으며 그 뒤로 부탄올, 클로로포름, 헥산 분획의 순이었다(Fig. 7). 다음으로는 Raw264.7 세포에서 LPS 유도성 NO 생성에 미치는 영향을 측정하였다. LPS와 함께 각 분획추출물을 24시간 처리하였을 때 DPPH 소거활성은 반대로 클로로포름, 헥산 분획에서의 NO 생성억제 효과가 높았고 부탄올 분획의 경우 NO 생성 억제효과가 전혀 관찰되지 않았다. 두 실험결과로부터, DPPH 소거활성과 NO 생성 억제활성이 모두 강하게 나타나는 분획은 에틸아세테이트 분획이었다. LPS를 48시간 처리하여 세포사멸을 유발하였을 때에도 세포사멸을 억제하는 효과는 역시 에틸아세테이트 분획에서 보여졌으며(Fig. 9A), 헥산, 클로로포름 분획의 경우 높은 비특이적 세포독성(LDH 활성)이 관찰되었다(Fig. 9B). 이상의 결과들을 종합하여 보면 진피발효추출물 분획들 중, Raw264.7 세포에서의 항산화, 항염활성, 세포생존능강화 활성들은 주로 에틸아세테이트 분획의 성분에서 비롯된 것임을 추측할 수 있다. 그러나

CHO-IR 세포의 증식억제 실험에서, 부탄을 분획은 혈청제거 배양액에 24시간동안 배양했을때 나타나는 세포사멸 현상을 강하게 억제하는 것으로 나타났으며, 나머지 분획에서는 모두 세포증식을 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 10). 따라서, 세포의 증식을 억제하는 항종양 성분은 부탄을 분획을 제외한 전 분획에 모두 포함되어 있으며 구체적으로 어느 성분이 세포증식을 억제할 것인 지는 각 분획으로부터 보다 정교한 분리정제를 거친 성분연구가 수행되어야 규명될 수 있을 것으로 사료되었다.

## 요 약

제주자생 재래감귤종의 하나인 진귤(*Citrus sunki* Hort. ex Tanaka)의 과피는 전통적으로 매우 중요한 한약재 성분으로 사용되어 왔으나 그 약리학적 효과에 대해서는 과학적인 분석이 되어 있지 못하다. 본 연구에서는 진귤과피추출물과 과피발효추출물의 1차 항산화활성을 검색하여 발효후 추출물이 더욱 효과적인 활성을 가지고 있는 사실을 발견하였고 이를 바탕으로 대식세포인 Raw264.7 세포에서 산화질소의 생성, 염증유발 단백질(NOS2, Cox-2)의 수준을 억제할 뿐 아니라 동 세포의 생존능을 개선시키는 결과를 얻었다. 그러나 상피세포유래 세포주인 CHO-IR 세포 및 사람의 간암세포주인 HepG2 세포의 생존능은 반대로 발효후 추출물에 의해 억제되는 것으로 나타났다. 이러한 결과들은 진피의 발효후 추출물이 대식세포의 항염증활성을 증가시키는 반면, 종양세포의 증식을 억제하고 세포사멸을 유도하는 다양한 약리효과를 가지고 있음을 의미한다.

## 감사의 글

본 연구는 2003년도 산업자원부 지역특화기술개발사업(주관 플러스월드, 과제번호 10012504)의 위탁기술개발 연구지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Kim HY. Distribution, taxonomy, horticultural characters of the local *Citrus* spp. in Cheju, and the genetic markers among them. PhD thesis, Cheonnam National University, Cheonnam, Korea (1988)
2. Francis AR, Shetty TK. Modulating effect of plant flavonoids on the mutagenicity of n-methyl-n-nitro-n-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis* 10: 1953-1955 (1989)

3. Guengerich FP, Kim DM. *In vitro* inhibition of dihydropyridine oxidation and aflatoxin B1 activation in human liver microsomes by naringenin and other flavonoids. *Carcinogenesis* 11: 2275-2279 (1990)
4. Guthrie N, Carroll KK. Inhibition of mammary cancer by citrus flavonoids. pp. 227-236. In: *Flavonoids in the living system*. Manthey JA, Buslig BS (eds). Plenum. New York, NY, USA (1998)
5. Chung SK, Kim SH, Choi YH, Song EY, Kim SH. Status of citrus fruit production and view of utilization in Cheju. *Food Ind. Nutr.* 5: 42-52 (2000)
6. AOAC. Official Methods of AOAC Intl. 15th ed. Method 994. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA (1990)
7. Kim CJ. Screening of physiologically active substance. Jayou Academy, Seoul, Korea. pp. 325-338 (1996)
8. Yoo KM, Hwang IK. *In vitro* effect of Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) extracts on proliferation of human prostate cancer cells and antioxidant activity. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 339-344 (2004)
9. Blios BS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199 (1958)
10. Kang SH, Song JH, Kang HK, Kim SJ, Lee YK, Park DB. Insulin can block apoptosis by decreasing oxidative stress via phosphatidylinositol 3-kinase- and extracellular signal-regulated protein kinase-dependent signaling pathways in HepG2 cells. *Eur J. Endocrinol.* 148: 147-155 (2003)
11. Schaus R. Griess' nitrite test in diagnosis of urinary infection. *J. Am. Med. Assoc.* 161: 528-529 (1956)
12. Moon SW, Kang SH, Jin YJ, Park JG, Lee YD, Lee YK, Park DB, Kim SJ. Fermentation of *Citrus unshiu* Marc. and functional characteristics of the fermented products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 669-676 (2004)
13. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685 (1970)
14. Ryu MR, Kim EY, Bae IY, Park YK. Contents of naringin, hesperidin, and neohesperidin in premature Korean Citrus fruits. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 132-135 (2002)
15. Baik SO, Bock JY, Chun HJ, Jeong SI, Baek SH, Oh HB, Kim IK. Analysis and quantitative distribution of glycosided flavonoids in Citruses and Korean Chung-pi. *Analytical Sci. Technol.* 14: 340-348 (2001)
16. Chen YQ, Zhou YQ, Wang MH. Activation of the RON receptor tyrosine kinase protects murine macrophages from apoptotic death induced by bacterial lipopolysaccharide. *J. Leukoc. Biol.* 71: 359-366 (2002)
17. Cha JY, Cho YS. Biofunctional activities of Citrus flavonoids. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 44: 122-128 (2001)
18. Park D, Pandey SK, Maksimova E, Kole S, Bernier M. Akt-dependent antiapoptotic action of insulin is sensitive to farnesyltransferase inhibitor. *Biochemistry* 39: 12513-12521 (2000)

(2005년 9월 7일 접수; 2005년 11월 5일 채택)