

탱자 열매 추출액의 항산화 및 지질저하효과

이 은*

상지대학교 생명자원과학대학

Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of *Poncirus trifoliata*

Eun Lee*

College of Life science and Natural Resources, Sangji University,
Wonju 220-702, Korea

Abstract - Lipid-lowering and antioxidant effects of *Poncirus trifoliata* extract were investigated in hyperlipidemic rat. Concentrations of FFA and triglyceride in plasma were decreased in *Poncirus trifoliata* extract treatment groups. Plasma total cholesterol and LDL-cholesterol were lower in *Poncirus trifoliata* extract treatment groups. However HDL-cholesterol showed no significant difference in all treatment groups. Concentrations of liver total cholesterol and triglyceride were decreased in *Poncirus trifoliata* extract treatment groups. Concentrations of plasma and liver TBARS showed a low values in *Poncirus trifoliata* extract treatment groups. The values of GSH-Px and CAT activities were increased in the *Poncirus trifoliata* extract treatment groups. However the values of SOD activity showed no significant difference in all treatment groups.

Key words - *Poncirus trifoliata* ext., Cholesterol, Triglyceride, Thiobarbituric acid, GSH-Px , SOD, CAT

서 언

재료 및 방법

탱자는 민간요법 및 한방에서 방향고미건위제로 널리 이용되었다. 특히 한방에서는 흉만, 흉통, 복만, 복통 및 염을 다스리는 데에 많이 응용되고 있다(Kim et al., 1999a; Kim et al., 1999b; Yi et al., 2004). 탱자의 주요성분으로는 flavonoid, hesperidin, neohesperidin, naringin 및 cumalin류 등으로 보고 되었으며(Park and Chun, 1969; Oh et al., 1989; Chung et al., 2004). 이러한 성분들과 생체기능과의 상관성에 대해 많은 연구가 수행되었다(Patkar et al., 1979; Fewtrell et al., 1982; Sagi-Eisenberg et al., 1985; Kanemoto et al., 1993; Lee et al., 1996; Lee et al., 2005). 그러나 탱자에 존재하는 기능성 물질들의 특성을 고려해 보면 소염, 소화기능향진 등을 비롯하여 생체내 지질대사 및 항산화제에도 많은 영향을 미칠 것으로 생각된다. 따라서 본 연구는 기능성 식품 혹은 지질강하제를 개발하기 위한 기초연구의 일환으로 비만을 유도한 흰쥐에게 탱자추출액을 급여수준을 달리 하여 급여한 후 혈액내의 지질량과 구성, 과산화물의 축적 및 항산화제 효소들의 활성치를 처리군 간에 비교, 검토했다.

실험동물, 실험군 및 비만유도

평균체중이 176.51 ± 4.29 g의 Sprague-Dawley계 수컷 50두를 선별하여, 그 중 10두는 기본식이(Table 1)를 자유 급여하여, 정상군으로 하고, 나머지 40두를 고지방식이(Table 1)를 8주간 급여한 후, 체중이 400g 이상인 30두를 선별하여, 평균체중이 유사하게 대조군, 처리1군(탱자추출액 100mg/kg), 처리2군(탱자추출액 200mg/kg)으로 각 처리군당 10두 씩 임의 배치했다.

식이급여

식이급여는 시험기간 4주동안 전 처리군 동일하게 기본식이(Table 1)를 급여하였으며, 급여량은 각 처리군 간에 섭취량의 차이가 5%이내가 되도록 균등 급여하였다. 물은 자유 급여하였다.

탱자추출액 및 급여

시중에서 구입한 양질의 탱자 500g(건조증량)을 적량으로 나누어 수조상에서 냉각수환류하에 5시간씩 3회 추출하고, 여과, 김암

*교신저자(E-mail) : elee@sangji.ac.kr

농축하여 MeOH ext. 80g을 만들었다. 급여는 처리군 별 적량을 매일 오후 5시경에 존대를 이용하여 경구 투여했다.

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients(%)	Basal diet	High fat diet
Casein	20.0	20.0
a- Corn starch	35.0	30.0
Sucrose	11.0	10.0
Lard	4.0	25.0
Corn oil	1.0	5.0
Mineral mix ¹⁾	3.5	3.5
Vitamin mix ²⁾	1.0	1.0
Cellulose powder	23.5	5.2
DL-methione	0.3	0.3

¹⁾Mineral mix.(g/kg diet) : CaCO₃, 29.29 ; CaHPO₄ · 2H₂O, 0.43 ; KH₂PO₄, 34.30 ; NaCl, 25.06 ; MgSO₄ · 7H₂O, 9.98 ; Feric citrate hexahydrate, 0.623 ; CuSO₄ · 5H₂O, 0.516 ; MnSO₄ · H₂O, 0.121 ; ZnCl₂, 0.02 ; KI, 0.005 ; (NH₄)₆MO₇O₂₄ · 4H₂O, 0.0025.

²⁾Vitamin mix(mg/kg diet) : Thiamine-HCl, 12 ; Riboflavin, 40 ; Pyrodoxin-HCl, 8 ; Vitamin-B₁₂, 0.005 ; Ascorbic acid, 300 ; D-bitotin, 0.2 ; Menadione, 52 ; Folic acid, 2 ; D-calcium pantothenate, 50 ; P-aminobenzoic acid, 50 ; Nicotinic acid, 60 ; Cholin choloride, 2000(IU/kg diet) ; Rethinyl acetate, 5000(IU/kg diet) ; Cholecalciferol, 250(IU/kg diet).

채혈 및 시료분석

채혈은 실험종료 12시간 전에 급여식이를 중단, 절식한 상태에서 심장천자법에 의해 채혈, 공시했다. 혈장 TBARS의 정량은 EDTA처리 혈액으로부터 혈장을 분리하여, 37°C에서 120분간 배양 후 Buege and Aust(1978)의 방법에 의해 정량했다. 간장내 TBARS량은 Ohkawa et al.(1979)의 방법으로, glutathione peroxidase(GSH-Px)활성측정은 Levander et al.(1983)의 방법에 의해 측정했다. 간장 Superoxide dismutase(SOD)측정은 Flohe et al.(1992)의 방법으로 측정했다. 간장 catalase(CAT) 활성측정은 Johnsson and Hkan Borg(1988)의 방법에 준했다. 혈장 및 간장의 total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride 량은 kit(일본 Wako Co.)를 이용하여 정량했다. 혈장유리지방산 함량은 V-NEFA kit(닛수이제약, 일본)를 이용한 효소법에 의해 측정했다.

통계처리

실험결과는 SPSS package를 이용하여 one-way ANOVA검정을 수행하였으며, 각 처리군간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test 에 의해 p<0.05 수준에서 실시했다.

결과 및 고찰

혈장내 유리지방산 및 triglyceride농도를 Table 2에 나타냈다. 유리지방산 및 triglyceride량은 대조군과 비교하여 햄자 처리군이 유의하게 낮은 값을 보였다. 그러나 정상군의 수준까지 나타내지는 않았다. 이러한 결과는 식물류의 기능성 물질을 연구한 다른 연구자의 결과와 유사한 경향으로(Kang et al., 1996; Lee et al., 2000; Lee, 2003; Sin and Han, 1997), 햄자 내에 존재하는 어떤 기능성 인자가 관여했을 것으로 생각된다(Park and Chun, 1969). Table 3에 총콜레스테롤량, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol의 변동경향을 나타내었다. 총콜레스테롤 및 LDL-cho.농도는 햄자 처리군 모두가 대조군보다 현저하게 하락한 값을 나타내었다. 총콜레스테롤 및 LDL-cholesterol이 동맥경화, 고혈압 및 각종 순환계 질환의 병인이 될 수 있음을 고려해 볼 때 햄자는 각종 순환계 질환의 예방 및 치료에 응용할 수 있음을 시사해 준다. HDL-cholesterol은 대조군을 비롯하여 전 처리군에서 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 HDL-cholesterol 농도에는 다른 요인이 많이 작용할 수가 있다는 다른 연구자의 연구 결과와 일치했다(이와 죄, 2000). Table 4는 간장내 총콜레스테롤과 Triglyceride 량을 나타낸 것이다. 양쪽 모두 동일한 경향으로 햄자 처리군들이 대조군 보다 유의하게 낮은 값을 보여, 정상군의 수준을 나타내었다. 이러한 결과는 간장에서 지질의 합성과 분해가 이루어짐을 고려해 볼 때 햄자의 기능성 물질이 간장의 지질합성능에 직접적인 영향을 주었을 가능성을 시사해준다. Table 5에 혈장 및 간장내의 TBARS농도를 나타내었다. 혈장 및 간장의 TBARS 농도는 햄자처리량이 증가함에 따라 감소하였다. 그러나 간장의 경우에는 감소량이 적어 100mg/kg 햄자 처리군은 대조군과 유의한 차이를 나타내지는 않았다. TBARS농도는 체내 과산화물질을 대변해 준다. 이러한 결과를 미루어 보면 햄자는 생체내의 과산화 물질을 하락시킬 수 있는 기능성 물질을 가지고 있을 것으로 사료된다. Table 6은 GSH-Px, SOD 및 CAT 활성치를 나타냈다. 3개 항산화계 효소들 모두가 대조군 보다 햄자 처리군

Table 2. Effects of *Poncirus trifoliata* ext. on plasma free fatty acids and triglyceride

Treatment	FFA(uEq/l)	Triglyceride(mg/dl)
I	562.37±21.47 ^a	117.64±5.48 ^a
II	811.57±20.15 ^c	209.37±5.16 ^c
III	643.94±21.25 ^b	185.39±5.04 ^b
IV	601.48±23.52 ^b	170.15±5.69 ^b

^{a,b,c}: Means in the same column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). I:Normal, II: Control , III: 100mg/kg . *Poncirus trifoliata* , IV: 200mg/kg *Poncirus trifoliata*. Values are means ± SE

Table 3. Effects of *Poncirus trifoliata* ext. on plasma total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol

Treatment	Total cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	LDL-cholesterol (mg/dl)
I	147.58±3.54 ^a	40.52±385 ^{NS}	40.18±3.04 ^a
II	220.07±4.66 ^c	37.17±3.26 ^{NS}	59.75±3.83 ^c
III	189.41±6.25 ^b	41.53±3.98 ^{NS}	48.41±3.15 ^b
IV	177.91±5.72 ^b	39.77±3.39 ^{NS}	47.64±3.11 ^b

^{a,b,c}: Means in the same column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). NS: Not significantly different ($P>0.05$). I :Normal, II: Control, III: 100mg/kg *Poncirus trifoliata*, IV: 200mg/kg *Poncirus trifoliata*

에서 높은 활성치를 보였다. 그러나 SOD는 유의한 차이는 아니었다. 이러한 결과는 TBARS농도의 경향과 잘 부합되었다.

Table 4. Effects of *Poncirus trifoliata* ext. on liver total cholesterol and triglyceride.

Treatment	Total cholesterol (mg/g)	Triglyceride (mg/g)
I	10.55±0.92 ^a	10.95±0.81 ^a
II	15.78±0.88 ^b	19.73±0.95 ^b
III	11.71±0.87 ^a	12.33±0.91 ^a
IV	10.85±0.84 ^a	11.69±0.94 ^a

^{a,b}: Means in the same column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). I :Normal, II: Control , III: 100mg/kg *Poncirus trifoliata*, IV: 200mg/kg *Poncirus trifoliata*

Table 5. Effects of *Poncirus trifoliata* ext. on plasma and liver TBARS

Treatment	Plasma TBARS (nmoles MDA/ml)	Liver TBARS (nmoles MDA/g)
I	14.11±3.68 ^a	16.38±4.05 ^a
II	30.61±3.31 ^b	35.25±5.97 ^c
III	27.15±4.53 ^b	29.44±4.15 ^{b,c}
IV	19.65±3.72 ^a	21.49±4.55 ^{ab}

^{a,b,c}: Means in the same column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). I :Normal, II: Control , III: 100mg/kg *Poncirus trifoliata*, IV: 200mg/kg *Poncirus trifoliata*

Table 6. Effects of *Poncirus trifoliata* ext. on antioxidant(GSH-Px, SOD, CAT) activity

Treatment	GSH-Px (nmoles/min/mg/ protein)	SOD (unit/mg pro- tein)	CAT (μmoles(H ₂ O ₂)/min/m g protein)
I	237.12±20.76 ^c	11.52±1.93 ^{NS}	141.97±8.58 ^c
II	128.39±18.27 ^a	9.77±1.45 ^{NS}	87.61±7.99 ^a
III	208.67±21.49 ^b	10.88±1.47 ^{NS}	113.52±9.44 ^b
IV	216.39±20.29 ^b	11.25±1.79 ^{NS}	117.75±5.77 ^b

^{a,b,c}: Means in the same column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). NS: Not significantly different ($P>0.05$). I :Normal, II: Control , III: 100mg/kg *Poncirus trifoliata*, IV: 200mg/kg *Poncirus trifoliata*

적 요

탱자 추출액이 비만을 유도한 흰쥐의 지질강화 및 항산화효과에 미치는 영향을 검토했다. 혈장유리지방산 및 triglyceride 양은 대조군과 비교하여 탱자 처리군이 유의하게 낮은 값을 보였다. 그러나 정상군의 수준까지 나타내지는 않았다. 총콜레스테롤 및 LDL-cho. 농도는 탱자 처리군 모두가 대조군보다 현저하게 하락한 값을 나타내었다. HDL-cho.은 대조군을 비롯하여 전 처리군에서 유의한 차이를 나타내지 않았다. 간장내 총콜레스테롤과 triglyceride량은 탱자 처리군이 대조군 보다 현저하게 낮은 값을 보였다. 혈장 및 간장의 TBARS 농도는 탱자처리량이 증가함에 따라 감소하였다. GSH-Px, SOD 및 CAT 활성치는 탱자 처리군에서 높은 활성치를 보였다. 그러나 SOD의 활성치는 대조군과 유의한 차이를 나타내지는 않았다.

사 사

본 연구는 2004년도 상지대학교 학술연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Buege J. A. and S .D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation. In: Fleischer S, Packer Leds Methods in enzymology(London, Academic press) 52: 302-309.
- Chung, H. S., J. B. Lee, J. H. Seong and J. U. Choi. 2004. Chemical components in peel and flesh of trifoliate oranges(*Poncirus trifoliata*). Korean journal of Food Preservation. 11: 342-346.
- Fewtrell, C. M. S., C. C. Foreman, P. Oheme, H. Renner and J. M. Stewart. 1982. The effects of substance P on histamine and 5-hydroxytryptamine release in rat. Journal of physiology (London) 330: 393-411.
- Flohe L., R. Becker, R. Brigelius, E. Lengfelder and F. Otting.

1992. Convenient assays for superoxide dismutase. CRC Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine: 287-293. Johnson L. H. and L. A. Hakan Borg. 1988. A spectrophotometric method for determination of catalaseactivity in small tissue samples. Analytical Biochemistry: 331-336.
- Kanemoto, T., T. Kasugai, A. Yamatodani, H. Ushio, H. Mochizuki, K. Tohya, M. Kimura, M. Nishimura and Y. Kitamura. 1993. Supernormal histamine release and normal cytotoxic activity of beige rat mast cells with giant granules. International Archives of Allergy and Immunology. 100: 99-106.
- Kang Y. H., T. Y. Ha and K. D. Moon. 1996. Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. J Korean Soc Food Nutr. 25: 367-373.
- Kim, D.H. E. A. Bae and M. J. Han. 1999a. Anti-helicobacter pylori activity of the etabolites of poncirus trifoliata by human intestinal bacteria. Biol. Pharm. Bull. 22: 422-424.
- Kim, H. M., H. J. Kim and S. T. Park. 1999b. Inhibition of immunoglobulin E production by poncinus trifoliata fruit extract. J. Ethnopharmacol. 66: 283-288.
- Levander, O.A., D. PDeLoach, C. Morris and P. B. Moser. 1983. Platelet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats. J. Nutr. 113: 55-63.
- Lee, H. T., E. K. Seo, S. J. Chung and C. K. Shim. 2005. Effect of aqueous extract of dried immature fruit of Poncirus trifoliata (L.) Raf. on intestinal transit in rodents with experimental gastrointestinal motility dysfunctions. Journal of Ethnopharmacology. 102: 302-306.
- Lee, Y. M., D. K. Kim, S. H. Kim, T. Y. Shin and H. Y. Kim. 1996. Antianaphylactic activity of poncirus trifoliata fruit extract. Journal of Ethnopharmacology. 54: 77-84.
- Lee E., M. Y. Choi and H. S. Oh, 2000. Effects of Powdered Siho (Bupleuri Radix) on serum and liver lipid composition and Antioxidative capacity in rat fed high oxidized fat. Korean J. Nutrition 33: 502-506.
- Lee E. 2003. Effects of powdered pine needle (*Pinus densiflora* seib et Zucc.) on serum and Liver Lipid Composition and Antioxidative, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 926-930.
- Oh, C. H., J. H. Kim, K. R. Kim and H. J. Ahn. 1989. Flavor composition of poncirus trifolita. Korean J. Food Sci. Technol. 21: 749-754.
- Ohkawa H., N. Ohishi and K. Yagi. 1979. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 95: 351-358.
- Park, M.S. and S. B. Chun. 1969. Studies on the change of chemical composition of poncirus trifoliata. Korean J. Bot. 12: 31-34.
- Patkar, S.A., U. Rasmussen and B. Diamant. 1979. On the mechanism of histamine release induced by Thapsigargin from *Thapsia gorganica* L. Agents and actions. 9: 53-57.
- Sagi-Eisenberg, R., J. Foreman and R. Shelly. 1985. Histamine release induced by histone and phorbol ester from rat peritoneal mast cells. European Journal of pharmacology. 113: 11-17.
- Sin M. K. and G. J. Han. 1997. The effects of green tea on the serum lipid and liver tissue of cholesterol fed rats. Korean J Sci Technol. 29: 1255-1263.
- Yi, J. M., M. S. Kim, M.S. H. N. Koo, B. K. Song Y. H. Yoo and H. M. Kim. 2004. Poncirus trifolita fruit induces apoptosis in human promyelocytic leukemia cells. Clinica Chimica Acta. 340: 179-185.
- 이은, 최무영. 2000. 솔잎분말이 고콜레스테롤급여 흰쥐의 체 지질구성과 TBARS량에 미치는 영향. 한국식품과학회지. 32: 1186-1190.

(접수일 2006.2.1 ; 수락일 2006.3.24)