

5종 생약(진피, 청피, 귤핵, 지실, 지각)의 Flavanone Glycoside 함량분석과 Peroxynitrite 소거효과

누그로호 아궁 · 박명곤 · 진성은¹ · 최재수¹ · 박희준*

상지대학교 제약공학과, ¹부경대학교 식품생명공학부

Quantitative Analysis of Flavanone Glycosides and Peroxynitrite Scavenging Effect of the Five Oriental Medicinal Drugs (*Aurantii nobilis* Pericarpium, *Citrii unshiu* Pericarpium, *Citrii unshiu* Semen, *Aurantii Fructus*, *Poncirii Fructus*)

Agung Nugroho, Myung-Gon Park, Seong Eun Jin¹, Jae Sue Choi¹ and Hee-Juhn Park*

Department of Pharmaceutical Engineering, Sangji University, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

¹Division of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Abstract – Overproduction of peroxynitrite (ONOO⁻) causes a variety of disease such as atherosclerosis, hypercholesterolemia, diabetes mellitus or obesity. Peroxynitrite scavenging activities and HPLC analysis on the five Oriental medicinal drugs belonging to the genus *Citrus*, *Aurantium* or *Poncirus* (Rutaceae family) and HPLC analysis were taken to evaluate flavanone glycosides with peroxynitrite scavenging activity. The IC₅₀s of the five crude drugs were shown as follows: *Aurantii nobilis* Pericarpium (Jinpi, 18.3 µg/ml), *Citrii unshiu* Pericarpium (Chungpi, 7.50 µg/ml), *Citrii unshiu* Semen (Gyulhaek, >50.0 µg/ml), *Aurantii Fructus* (Jigak, 18.3 µg/ml), and *Poncirii Fructus* (Jisil, >50.0 µg/ml) where Korean crude drug's names are noted in the parenthesis. Peroxynitrite scavenging effect of flavanones or their glycosides usually contained in *Citrus* species were observed as follows: hesperetin (1.89 µg/ml), naringenin (7.77 µg/ml), hesperidin (8.44 µg/ml), poncirin (>50.0 µg/ml) and ponciretin (>50.0 µg/ml). The activities of naringin and poncirin with α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl moiety were weak. HPLC analytical data revealed that Jinpi (the peels of mature fruits of *Citrus unshiu*) and Chungpi (the peels of immature fruits of *C. unshiu*) had high quantities of hesperidin as the value of 142.1±0.21 and 104.51±1.10 mg/g dried weight, respectively. Poncirin was clearly detected in only Jisil and naringenin and naringin were not observed on the HPLC chromatogram of the five crude drugs.

Key words – Citrus, peroxynitrite, flavanone glycosides, hesperidin, HPLC

동양의학에서 사용되는 한약 중 운향과(Rutaceae)식물의 열매로서 flavanone 배당체 성분을 함유하는 생약으로 지실, 지각, 진피, 청피, 귤핵 등이 있다. 이들 5종 생약은 모두 운향과(Rutaceae)에 속하고 지실(*Ponciri Fructus*)은 탕자나무(*Poncirus trifoliata*)의 미숙과실을, 지각(*Aurantii Fructus*)은 광귤나무(*Citrus aurantium* L.)의 미숙과실을 지칭하며, 진피(*Aurantii nobilis* Pericarpium), 청피(*Citrii unshiu* Pericarpium), 귤핵(*Citrii unshiu* Semen)은 각각 귤나무(*Citrus unshiu* Macrow)의 성숙과피, 미숙과피, 성숙열매의

씨를 지칭하고 있다.¹⁾

Peroxynitrite(ONOO⁻)는 superoxide anion radical(·O₂⁻)와 nitric oxide(·NO)의 반응에 의해 생성되며 reactive nitrogen species(RNS)의 일종으로서 각종 감염성 질환에 필요하다.²⁾ 그러나 과량생성된 peroxynitrite는 지질과 단백질의 지질과산화와 세포독성을 일으킬 수 있다.³⁾ 또, peroxynitrite 과량생성은 고콜레스테롤혈증, 동맥경화, 당뇨병 및 비만을 일으킬 수 있다.⁴⁻⁶⁾ 그러므로, 식물 추출물이 peroxynitrite를 소거시키는 강한 작용이 있으면 그 활성물질을 이용하여 peroxynitrite 과다생성에 기인한 성인병의 예방 및 제어에 이용할 수 있을 것이다.

*교신저자 (E-mail): hjpark@sangji.ac.kr
(Tel): +82-33-730-0564

Hesperidin은 Citrus속 식물에서 흔히 발견되는 flavanone glycoside의 하나로 유사물질로는 naringin, poncirin, neohesperidin 등이 있고 그들의 aglycone으로 naringenin, ponciretin, hesperetin 등이 가능하다.⁷⁾ 이들 물질에 대한 생리활성으로 cytochrome P₄₅₀ 효소에 대한 억제효과,^{8,9)} genotoxicity에 대한 예방효과,¹⁰⁾ NO 생성 억제효과,¹¹⁾ 항산화,¹²⁾ 항염효과,^{13,14)} 항알러지 효과¹⁵⁾ 등 다양하게 알려져 있다.

Citrus, Aurantium 및 Poncirus속 식물은 주로 정유성분의 monoterpene류,¹⁶⁾ furanocoumarin류,¹⁷⁾ flavanone glycoside류,⁷⁾ limonoid¹⁸⁾ 등이 알려져 있으며 각종 생리활성에 관한 다양한 연구가 있다. 본 연구에서는 peroxyntirite를 억제하는 작용에 의한 비만에 유효한 생물소재물을 찾기 위하여 주로 Rutaceae에 속하는 식물기원의 상기 5종의 생약 추출물과 flavanone 및 그 배당체의 peroxyntirite 소거효과의 비교 및 HPLC에 의한 flavanone계 화합물의 함량평가에 관한 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

기기 및 시약 - HPLC 분석을 위해 사용한 기기는 Prostar 210 solvent delivery module, Prostar 325 UV-Vis detector 와 20 µL sample loop(Rheodyne, Rohnert Park, CA, USA)으로 구성된 Varian사의 HPLC 시스템(Walnut Creek, CA, USA)이었다. 사용한 HPLC용 컬럼은 Shiseido (Chuoku, Tokyo, Japan) Capcell Pak C18 column(5 µL, 250 mm×4.6 mm I.D.)이었다. HPLC 분석에 사용된 용매는 모두 HPLC급 용매를 사용하였다. Peroxyntirite 소거효과 실험에 사용된 시약인 dihydrorhodamine 123(DHR 123)과 peroxyntirite는 각각 Molecular Probes (Eugene, OR, USA) 와 Cayman Chemical Co. (Ann Arbor, MI, USA)로부터 구입한 것을 사용하였다.

그리고 분석을 위해 사용된 표준 화합물인 naringin, hesperidin, naringenin, hesperetin은 Sigma사에서 구입한 것을 사용하였고 poncirin은 직접 지실에서 분리하여 NMR data를 비롯한 물리화학적 데이터를 기초로 문헌치와 동일

함을 확인한 후 사용하였다. Poncirin을 분리한 과정을 간략히 나타내면 다음과 같다. 지실 메탄올 추출물 5.0 g을 이용하여 silica gel column chromatography(silica gel: Art No. 7729, Merck, Germany, Φ5 cm×40 cm)를 이용하여 펌프 (Fluid Metering, Inc., USA)를 이용하여 전개용매 CHCl₃-MeOH-H₂O(7:3:1, 하층)으로 전개하고 25 ml씩 분취하여 8 번에서 26번까지 분취하여 농축하고 MeOH에서 재결정하여 poncirin 330mg을 얻었다. 한편, 28번부터 41번까지 농축하여 hesperidin 875 mg을 얻었다. 사용된 표준 화합물들의 구조는 Fig. 1에 나타내었다.

식물재료 - 식물재료는 한국 강원도 원주시 소재 천일약업사에서 구입한 것을 사용하였다. 모두 한국산인 지실, 지각, 진피, 청피, 곱핵을 구입하여 사용하였다. 상지대학교 친환경식물학부 임상철 교수에 의해 이들 생약은 모두 운향과(Rutaceae)에 속하는 것으로 지실(Ponciri Fructus)은 탕자나무(Poncirus trifoliata)의 미숙과실로, 지각(Aurantii Fructus)은 광귤나무(Citrus aurantium L.)의 미숙과실로 각각 동정되었으며, 진피(Aurantii nobilis Pericarpium), 청피(Citrii unshiu Pericarpium), 곱핵(Citrii unshiu Semen)은 각각 귤나무(Citrus unshiu Macrow)의 성숙과피, 미숙과피, 성숙열매의 씨(종자)로 동정한 후 실험에 사용하였다.

추출 - 각 식물재료 20 g을 분쇄한 후 MeOH 200 ml이 든 플라스크에 넣고 50°C에서 24시간 sonication하여 추출하였다. 각 추출액을 감압하에 진공농축기를 이용하여 농축하여 끈적한 상태의 추출물을 얻었다, 이를 동결건조기를 이용하여 24시간 동안 동결건조하여 분말상의 MeOH 추출물을 얻었다: 진피(6.60 g, 33.0%), 곱핵(2.87 g, 14.5%), 지각(4.48 g, 22.4%), 지실(5.35 g, 26.8%), 청피(3.80 g, 19.0%). 각 식물재료의 수득량과 수득률을 각각 괄호 안에 표시했다.

Peroxyntirite 소거효과 실험 - Kooy의 방법¹⁹⁾을 변형하여 Peroxyntirite (ONOO⁻) 소거효과 활성을 측정하였다. 이 방법은 peroxyntirite의 존재 하에 비형광성의 DHR 123으로부터 급속히 생성되는 강한 형광성의 rhodamine 123을 모니터링하는 것이다. Rhodamine buffer(pH 7.4)는 50 mM sodium phosphate dibasic, 50 mM sodium phosphate

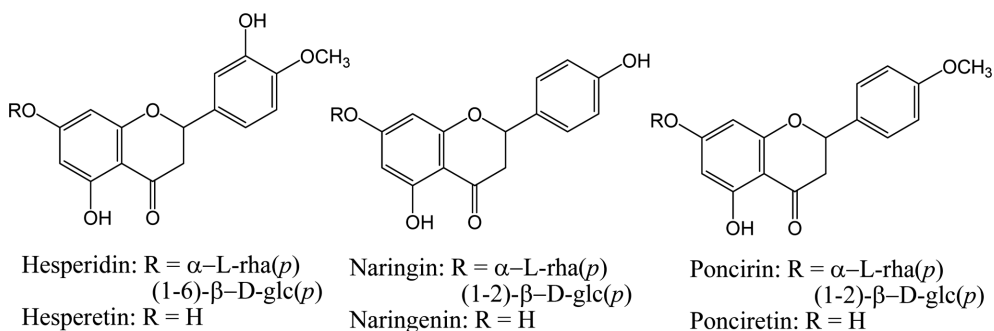


Fig. 1. Structure of the three flavanone glycosides and their aglycones.

monobasic, 90 mM sodium chloride, 5 mM potassium chloride, and 100 μ M DTPA로 구성되어 있다. 마지막 DHR 123 용액 농도는 5 μ M이다. 이 검색법에서 완충액은 사용 전에 조제하였으며 병상에 보관하고 사용하였다. 식물 추출물은 10% DMSO(f.c. 5 μ g/mL)에 녹여 사용하였다. 0.3N NaOH 용액에 10 μ M peroxyntirite의 추가 여하에 따른 처리

Table I. IC₅₀ value (μ g/mL) on peroxyntirite scavenging activity of the MeOH extracts of five crude drugs

| Crude drug | IC ₅₀ (μ g/ml) | Crude drug | IC ₅₀ (μ g/ml) |
|------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|
| Jinpi | 18.33 \pm 4.79 | Jigak | 37.45 \pm 1.58 |
| Chungpi | 7.50 \pm 0.44 | Jisil | >50 |
| Gyulhaek | >50 | L-penicillamine* | 4.74 \pm 0.02 |

ONOO⁻ scavenging activity was measured by monitoring the oxidation of DHR 123 as described in materials and methods. Data are mean \pm SEM of triplicate experiments. *used as a positive control.

Table II. IC₅₀ value (μ g/mL) on peroxyntirite scavenging activity of the flavonone derivaives

| Compound | IC ₅₀ (μ g/ml) | Compound | IC ₅₀ (μ g/ml) |
|------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|
| Poncirin | >50 | Hesperidin | 8.44 \pm 0.24 |
| Ponciretin | >50 | Hesperetin | 1.89 \pm 0.02 |
| Naringin | >50 | L-penicillamine* | 3.13 \pm 0.21 |
| Naringenin | 7.77 \pm 0.33 | | |

Data are mean \pm SEM of triplicate experiments. *used as a positive control.

Table III. Calibration curve equation of the seven caffeoylquinic acids used for HPLC analysis

| Comp.No | Flavanones | Retention time (min) | Regression Equation | R ² value |
|---------|------------|----------------------|---------------------|------------------------|
| 1 | Hesperidin | 4.7 | y = 61.42x + 9920 | R ² = 0.998 |
| 2 | Poncirin | 7.6 | y = 321.6x + 12336 | R ² = 0.998 |
| 3 | Naringenin | 11.4 | y = 634.7x + 18365 | R ² = 0.999 |
| 4 | Hesperitin | 13.4 | y = 948.6x + 18269 | R ² = 0.999 |

y (area, mV), x (concentration, mg mL⁻¹)

Table IV. Content of flavonone glycoside (mg/g of dried weight) in the MeOH extract of five citrus

| Sample | Flavanone glycoside (mg/g dried weight) | | | % of extract |
|----------|---|------------------|-------------------|------------------|
| | Hesperidin | Poncirin | Sum | |
| Jinpi | 142.14 \pm 0.21 ^a | ND | 142.14 \pm 0.21 | 43.07 \pm 0.06 |
| Gyulhaek | ND | ND | - | - |
| Jigak | 201.48 \pm 2.52 | ND | 201.48 \pm 2.52 | 89.95 \pm 1.12 |
| Jisil | 139.39 \pm 0.59 | 59.14 \pm 0.62 | 198.53 \pm 1.15 | 74.22 \pm 0.43 |
| Chungpi | 104.51 \pm 1.10 | ND | 104.51 \pm 1.10 | 31.67 \pm 0.33 |

^aValues represent mean \pm S.D. based on three experiments.

후 최종의 형광 강도를 측정하였다. 산화된 DHR 123의 형광강도는 microplate fluorescence reader FL 500 (Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 각각 480 nm와 530 nm의 excitation과 emission에서 측정하였다. Peroxynitrite 소거활성은 DHR 123 산화의 검출을 통하여 최종 형광강도 값에서 background fluorescence 값을 빼서 산출하였다. L-Penicillamine은 양성 대조약물로 사용하였다. 이 활성실험의 데이터를 평균 \pm SEM으로서 추출물과 표준 화합물의 결과를 Table I과 II에 나타내었다.

HPLC 분석 - 표준 화합물과 시료 추출물 80% MeOH에 녹이고 난 후 0.50 μ m filter를 이용하여 여과하여 표준액과 검액으로 사용하였다. 이동상 용매로 A와 B 용매를 이용하여 용리구배로 용리하였다. A용매로 0.05% 인산 용액을, B 용매로 MeOH을 사용하였다. 이동상의 흐름 속도는 1.0 ml/min이었으며 용리구배 조건은 다음과 같다(0-10 min, 60% A : 40% B; 10-20 min, 50% A : 50% B; 20-30 min, 40% A : 60% B; 30-35 min, 60% A : 40% B). 그리고, 검출은 UV 검출기를 사용하였고 246 nm의 고정된 파장에서 수행하였다. 표준액 50, 100, 200 μ g/ml 농도를 만든 다음 상기 조건에서 HPLC chromatogram을 얻고 그 피크 면적을 얻어 검량선을 작성한 할 수 있었으며 각 화합물 retention time 과 R² value를 Table III에 나타내었다.

계속하여 각 시료 추출물 1.00 mg/l를 injection하여 크로마토그램의 피크를 얻고, 이를 바탕으로 해당 화합물의 검량선을 이용하여 농도를 얻었으며, 이로부터 식물 재료 중 함량(mg/g dried weight)과 추출물 중 비율을 산출하여 그 결과를 Table IV에 나타내었다.

결과 및 고찰

먼저 5종 생약의 Peroxynitrite scavenging activity를 측정 한 결과를 Table I에 나타내었듯이 청피, 진피, 지각의 IC₅₀ 값이 7.50, 18.3, 37.5 µg/ml로 각각 나타나고 지실과 굴핵은 50 µg/ml 이상이었다. *C. unshiu*의 씨를 말린 생약인 굴핵은 그 활성이 매우 약하였으나 그 과피인 청피와 진피는 효과가 강하게 관찰되었다. 특히, *C. unshiu*의 미숙과피인 청피의 활성이 성숙과피인 진피보다 그 효과가 크게 관찰되었다. 한편 탕자나무의 미숙과실인 지실은 IC₅₀값이 50 µg/ml 이상으로서 매우 약한 것으로 나타났다.

Flavanone 및 그 배당체 화합물의 IC₅₀값을 Table II에 나타내었는데 hesperetin, naringenin, hesperidin의 값이 각각 1.89, 7.77, 8.44 µg/ml의 값을 보였다. 그러나 당부로서 α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl기를 갖는 배당체 poncirin, naringin과 극성이 낮은 화합물인 비당체인 ponciretin의 값은 50 µg/ml 이상인 것으로 관찰되어

peroxynitrite를 소거하는 활성이 약한 것으로 평가되었다. 한편, 대조약물로 사용된 L-penicillamine은 그 IC₅₀ 값이 3.13 µg/ml이었다. Hesperetin의 경우만이 당 사이에 α(1→6) 결합을 갖는 그 배당체인 hesperidin에서도 활성이 관찰되었다.

Fig. 2에 표준 화합물 혼합물과 5종 생약의 시료의 HPLC chromatogram의 profile을 제시하였으며 Table III에는 각 화합물의 검량선 회귀방정식을 제시하였다. 지각, 진피, 청피에서는 주로 hesperidin에 기인한 피크만 나타나고 본 실험 조건에서는 다른 화합물 피크를 관찰할 수 없었다. 굴의 씨를 기원으로 하는 굴핵에서는 거의 flavanone계 화합물을 찾기가 어려웠다. 또 오직 지실에서만 hesperidin 이외에 poncirin의 피크가 나타났다. 그러므로, 탕자나무의 미숙과실을 사용하는 지실만이 poncirin을 함유하는 점이 테스트된 다른 생약과 차이점이었다. 또, 5종 생약에서 비당체로 존재하는 flavanone은 거의 확인하기 어려운 것으로 미루어 주로 이 계열 화합물은 이들 생약에서 배당체로 존재하는

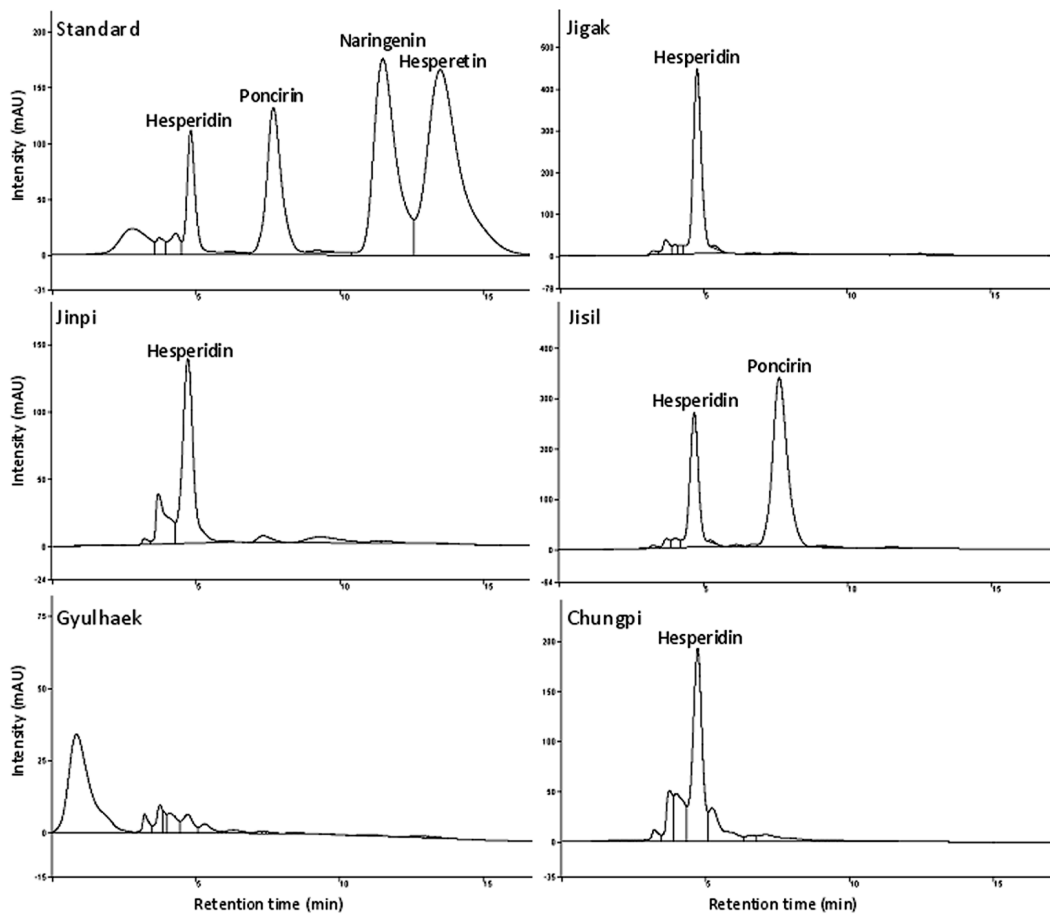


Fig. 2. HPLC chromatographic profiles of the MeOH extracts of five crude drugs and a mixture of standard compounds. Jinpi (*Auranti nobilis* Pericarpium), Jisil (*Ponciri Fructus*), Gyulhaek (*Citrii unshiu Semen*), Jigak (*Auranti Fructus*), and Chungpi (*Citrii unshiu Pericarpium*)

것으로 추측된다.

각 생약의 함량을 Table IV에 나타낸 바와 같이 hesperidin은 귤핵에서만 나타나지 않고 4종 생약에서 모두 관찰되었다. Poncirin은 탕자나무의 미숙과피인 지실에서만 나타났다. Table II에서 보듯이 hesperidin은 지각에서 가장 높아 201.5 mg/g의 함유량을 보였고, 진피와 청피의 값을 비교해 보면 성숙한 과실을 기원으로 하는 진피 함량(142.1 mg/g)이 청피(104.5 mg/g)에 비해 더 높은 값을 나타내었다. 특히, 지각 MeOH 추출물 중 Flavanone 배당체 화합물은 약 89%의 함유량을 보여 매우 풍부한 flavanone glycoside 함유 추출물인 것으로 나타났다.

이상에서 보듯이 진피, 청피, 지각 등은 peroxynitrite 소거효과가 우수하고 그 flavanone 함량도 높은 것으로 나타났다. 이에 비해 지실은 그 활성이 낮게 관찰되었으므로 peroxynitrite scavenger로서 귤나무(*C.unshiu*) 과피나 광귤나무 (*C. aurantium*) 미숙과실(지각)이 좋을 것으로 추천되며 탕자나무의 미숙과실인 지실은 그에 비해 효과가 매우 약한 것으로 평가된다. 또 귤의 씨를 약용하는 귤핵은 peroxynitrite scavenger로서는 활성이 매우 약한 것으로 평가되었다.

본 연구의 결과 flavanone glycoside와 peroxynitrite 소거효과의 상관관계는 매우 약한 것으로 나타났다. 즉, flavanone glycoside 함량이 높았던 지각은 진피나 청피에 비해 그 효과가 약하였다. 이 사실은 citrus 속 및 그 근연식물 중에 함유된 limonoid,¹⁸⁾ coumarin,¹⁷⁾ nobiletin¹¹⁾과 같은 다른 화합물도 크게 영향을 주기 때문인 것으로 예상된다.

Kim 등¹²⁾은 hesperetin이 peroxynitrite에 대한 강력한 소거효과를 나타낸다고 보고한 바 있다. 또, 그 배당체인 hesperidin은 암, 심혈관질환, 염증을 억제하는 작용이 보고되었다. hesperidin투여에 의한 과체중 환자에 대한 임상실험에서 체중감소효과가 있다고 보고되었으며²⁰⁾ 3T3-L1 preadipocyte의 apoptosis 유도작용과 증식 억제작용이 보고됨에 따라 비만억제효과 가능성을 제시한 바 있다.²¹⁾ 귤 식물소재 중 귤핵을 제외한 청피와 진피는 높은 peroxynitrite 소거효과 및 hesperidin 함량을 나타내었으므로 이를 이용한 동맥경화, 당뇨병, 고지혈 비만 등 질환에 이용할 수 있을 것으로 예상된다.

결 론

진피, 청피, 귤핵, 지실, 지각 등 Rutaceae 기원으로 하는 5종 생약에 대하여 peroxynitrite 소거효과를 측정하고 5종의 flavanone계 화합물의 peroxynitrite 소거효과 및 함량을 테스트한 결과, 진피, 청피, 지각 등의 높은 활성 및 hesperidin 함량에 기인하여 peroxynitrite과량생성에 따른 질환(동맥경화, 고지혈증, 당뇨병, 심혈관계 질환 및 비만) 등

의 예방과 치료에 이용될 수 있을 것으로 예상된다.

인용문헌

1. Chi, H. J. and Lee, S. I., Standardization of Crude Drugs Except for Korean Pharmacopeia, Korean Medical Index, Seoul (1988).
2. Klotz, L. O., Schroeder, P. and Sies, H. (2002) Peroxynitrite signaling: receptor tyrosine kinases and activation of stress-responsive pathways, *Free Radic. Biol. Med.* **33**: 737-743.
3. Virag, L., Szabo, E., Gergely, P. and Szabo, C. (2003) Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention, *Toxicol. Lett.* **140-141**: 113-124.
4. Korda, M., Kubant, R., Patton, S., and Malinski, T., (2008) Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **295**: 1514-1521.
5. Patcher, P., Obrosova, I. G., Mabley, J. G., and Szabo, C. (2005) Role of nitrosative stress and peroxynitrite in the pathogenesis of diabetic complications. Emerging new therapeutic strategies. *Curr. Med. Chem.*, **12**: 267-275.
6. Drel, V. R., Patcher, P., Vareniuk, I., Pavlov, I., Lyzogulbov, V. V., Grovez, J. T., and Obrosova, I. G. (2007) A peroxynitrite decomposition catalyst counteracts sensory neuropathy in streptozotocin-diabetic mice. *Eur. J. Pharmacol.*, **569**: 48-58.
7. Cho, E. J., Piao, X., Piao, L., Piao, H., Park, M. K., Kim, B. K., and Park J. H. (2000) Chemical constituents of the fruit of *Citrus junos*, *Nat. Prod. Sci.* **6**: 179-182 (2000).
8. Kim, J. Y., Han, E. H., Shin, D. W., Jeong, T. C., Lee, E. S., Woo, E. R., and Jeong, H. G. (2004) Suppression of CYP1A1 expression by naringenin in murine Hepa-1c1c7 cells, *Arch. Pharm. Res.* **27**: 857-862.
9. Fujita, T., Kawase, A., Niwa, T., Tomohiro, N., Masuda, M., Mstuda, H., and Iwaki, M. (2008) Comparative evaluation of 12 immature Citrus fruit extracts for the inhibition of cytochrome P₄₅₀ isoform activities, *Biol. Pharm. Bull.* **31**: 925-930.
10. Ahmadi, A., Hosseinimehr, S. J., Naghshvar, F., Hajir, E., and Ghahremani, M. (2008) Chemopreventive effects of hesperidin against genotoxicity induced by cyclophosphamide in mice bone marrow cells, *Arch. Pharm. Res.* **31**: 794-797.
11. Choi, S.-Y., Ko, H.-C., Ko, S.-Y., Hwang, J.-H., Park, J.-G., Kang, S.-H., Han, S.-H., Yun, S.-H., and Kim, S.-J. (2007) Correlation between flavonoid content and the NO production inhibitory activity of peel extracts from various Citrus fruits, *Biol. Pharm. Res.* **30**: 772-778.
12. Kim, J. Y., Jung, K. J., Choi, J. S., and Chung, H. Y. (2004) Hesperetin: a potent antioxidant against peroxynitrite, *Free Radic. Res.* **38**: 761-769 (2004).
13. Tanaka, T., Yasui, Y., Ishigamori-Suzuki, R., Oyama, T. (2008) Citrus compounds inhibit inflammation- and obesity-related colon carcinogenesis in mice, *Nutr. Cancer* **60**: 60-80.

14. Kang, O. H., Kim, D. K., Lee, Y. M. (2004) Citrus unshiu water extract inhibit trypsin-induced TNF- α and tyrtase productions by blocking the ERK phosphorylation and trypsin activity, *Nat. Prod. Sci.*, **10**: 211-216.
15. Kim, S. K., Lee, K. T., Eun, J. S., Zee, O. P., Lim, J. P., Eum, S. S., Kim, S. H., and Shin, T. Y. (1999) Anti-allergic from the peels of *Citrus unshiu*, *Arch. Pharm. Res.* **22**: 642-645.
16. Malhotra, S., Suri, S., and Tuli, R. (2008) Antioxidant activity of Citrus cultivars and chemical composition of Citrus karna essential oil, *Planta Med.* **75**: 62-64.
17. Saita, T., Fujito, H., and Mori, M. (2004) Screening of furanocoumarin derivatives in Citrus fruits by enzyme-linked immunosorbent assay, *Biol. Pharm. Res.* **27**: 974-977.
18. Roy, A. and Saraf, S. (2006) Limonoids: Overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom, *Biol. Pharm. Bull.* **29**: 191-201.
19. Kooy, N. W., Royall, J. A., Ischiropoulos, H., and Beckman, J. S. (1994) Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrohodamine 123. *Free Radic. Biol. Med.*, **16**: 149-156.
20. Guez, J. J., Enriquez Vega, D. M., Avril, L., Bousetta, S., and Taieb, C. (2009) Assessment of quality of life in Mexican patients suffering from chronic venous disorder-impact of oral *Ruscus aculeatus*-hesperidin-methyl-chalcone-ascorbic acid treatment-'Quality Study', *Phlebology* **24**: 157-165.
21. Hsu, C. L. and Yen, G. C. (2006) Induction of cell apoptosis in 3T3-L1 pre-adipocyte by flavonoids is associated with their antioxidant activity, *Mol. Nutr. Food. Res.* **50**: 1072-1079.

(2009년 10월 4일 접수)