

미성숙 진귤 과피 추출물이 신경세포 사멸에 미치는 영향

고운철 · 이선령[†]

제주대학교 생물학과

Effect of Immature *Citrus sunki* Peel Extract on Neuronal Cell Death

Woon Chul Ko and Sun Ryung Lee[†]

Department of Biology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea.

ABSTRACT : The peel of *Citrus sunki* exhibits multiple biological activities such as anti-oxidant, anti-inflammation and anti-obesity, but little is known about neurodegeneration-related activities. In this study, we investigated the protective effect of ethanolic extract from both immature and mature *Citrus sunki* peel on neuronal cell death. Treatment of the neuroblastoma cell line SH-SY5Y with MPP⁺, an inducer of Parkinson disease model, increased cell death in a dose dependent manner. Increased levels of active caspase-3 and cleaved PARP were detected. Treatment with immature *Citrus sunki* peel extract significantly reduced MPP⁺-induced neurotoxicity. Cytoprotection with immature *Citrus sunki* peel extract was associated with a decrease in caspase-3 activation and PARP cleavage. In contrast, mature *Citrus sunki* peel extract had no significant effects. These data suggest that immature *Citrus sunki* peel extract may exert anti-apoptotic effect through the inhibition of caspase-3 signaling pathway on MPP⁺-induced neuronal cell death.

Key Words : *Citrus sunki*, Apoptosis, Parkinson Disease, MPP⁺

서 언

고령화 사회로 접어들면서 노인 인구의 수가 증가하게 되고, 이에 따라 노인성 질환, 즉 퇴행성 질환 및 뇌혈관 질환 등이 사회적으로 많이 대두되면서 이들의 치료 및 예방에 관심이 고조되고 있다.

알츠하이머나 파킨슨 병과 같은 퇴행성 신경계 뇌질환은 노화 및 뇌 손상 부위와 정도에 따라 기억장애, 인지장애, 운동장애가 발생되기도 한다. 그 중 운동완서, 진전, 경직, 운동 불능 등의 증상이 나타나는 파킨슨 병은 뇌의 흑색질이 파괴되면서 신경전달물질인 도파민을 만드는 신경세포의 사멸로 인해 부족해진 도파민에 의해 생기는 질환으로 아직 정확한 기작은 알려져 있지 않지만 미토콘드리아의 기능저하, excitotoxicity, 산화적 스트레스, 염증 반응등과 연관되어 있는 것으로 알려져 있다 (Gelb *et al.*, 1999; Yacoubian and Standaert, 2008; Bae *et al.*, 2010). 파킨슨병과 관련된 연구를 위해 주로 사용되는 신경독성물질인 1-methyl- 4-phenyl-

1.2.3.6-tetrahydrophridine (MPTP)는 카테콜아민성 신경만을 선택적으로 파괴하기 때문에 파킨슨병 유발 동물모델에서 주로 이용되며 MPTP는 뇌혈관장벽을 통과한 후 정상세포에서 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺)라는 대사체를 만들어 신경세포의 손상을 유도할 수 있어서 세포모델에서 주로 사용하는 신경독소는 MPP⁺이다 (Rock and Peterson, 2006; Wilms *et al.*, 2007; McGeer and McGeer, 2008; Jung *et al.*, 2009). 도파민 전구물질인 L-dopa의 투여로 파킨슨병의 치료는 진행되나 지속적인 사용이 부작용을 일으킬 수 있는 것으로 알려지면서 도파민 신경세포의 사멸과 관련된 인자들의 연구를 통해 예방이나 완화법에 관심이 집중되고 있다. 최근에는 파킨슨병 유발 모델 뿐 아니라 여러 신경성 뇌질환을 유발하는 모델에서 다양한 피토키미칼들의 효능에 대한 많은 연구가 진행중이며 이들은 신경 면역기능을 향상시키기도 하고 신경세포 보호 효능을 나타내는 것으로 보고되어 있다 (Jung *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2009; Ryu *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2014; Yabuki *et al.*, 2014).

[†]Corresponding author: (Phone) +82-64-754-3522 (E-mail) srlee@jejunu.ac.kr

Received 2015 January 20 / 1st Revised 2015 February 2 / 2nd Revised 2015 February 15 / 3rd Revised 2015 February 27 / Accepted 2015 March 2

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

감귤은 비타민 C, 유기산, 당류 등의 일반 성분 외에 flavonoids, carotenoids, coumarins, phenylpropanoids, limonoids 등 약 60여종의 생리활성물질을 함유하고 있으며, 이 중에는 감귤 특유의 hesperidin, naringin, tangeretin, nobiletin과 같은 polymethoxylated flavones (PMFs)를 가지는 것으로 보고되어 있다. 특히 이러한 생리활성 물질은 과육보다 과피에 많이 함유되어 있으며 항염, 항암, 항산화 등 다양한 생리적 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다 (Chung *et al.*, 2000; Yoshigai *et al.*, 2013).

현재 제주도에서 주로 재배하고 있는 감귤은 20세기 초 일본으로부터 도입된 온주밀감류 (*Citrus unshiu*)로 감귤류의 활성에 대한 연구는 주로 온주밀감에 대한 것이 대부분이다. 하지만 예로부터 한방이나 민간요법의 약재로 사용되어온 감귤은 산물이나 산귤로 불리는 제주 자생 재래 감귤인 진귤 (*Citrus sunki*)이며, 진피라고 하는 진귤의 과피가 주요한 한방 소재 중의 하나이다 (Kang *et al.*, 2005). 특히, 감귤 특유의 성분인 tangeretin과 nobiletin의 함유량이 높은 진귤에서의 항산화, 항염 및 항비만 작용의 효능은 매우 효과적인 것으로 알려져 있으나 (Choi *et al.*, 2007; Shin *et al.*, 2011; Kang *et al.*, 2012) 진귤 과피가 퇴행성 신경계 뇌질환에 어떠한 영향을 미치는 지에 대한 연구는 미비한 실정이다. 또한, 진귤이 가지고 있는 flavonoids는 성숙도에 따라 함유량에 변화를 가져와 성숙과피에 비해 미성숙 과피에 보다 많은 생리활성 물질을 함유하는 것으로 보고되어 있다 (Shin *et al.*, 2011). 따라서 본 연구는 성숙과 미성숙에 따른 진귤 과피 추출물이 신경성 뇌질환에 미치는 효능을 확인하고자 수행되었다. 신경성 뇌질환 중의 하나인 파킨슨병을 유발하는 MPP⁺를 처리하여 신경세포의 손상을 유도한 후 성숙 과피와 미성숙 과피의 에탄올 추출물이 어떠한 영향을 미치는지 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 과피 추출물 제조

본 실험에 사용된 미성숙 및 성숙 진귤 과피 추출물은 제주대학교 생물학과 분자생물학실험실로부터 제공받아 사용하였고 추출방법은 Shin 등 (2011)의 논문에 기술한 바와 같다 (Shin *et al.*, 2011).

2. 세포배양

Human neuroblastoma SH-SY5Y 세포는 한국 세포주은행에서 분양 받아 사용하였다. 세포는 10% fetal bovine serum (FBS), 100 unit/ml penicillin/ streptomycin, 20 mM HEPES가 포함된 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM, Gibco, Carlsbad, CA, USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂

항온기에서 배양하였다. 실험을 위해 세포는 1 × 10⁶ cells/ml의 농도로 심어 48시간 배양한 후 FBS가 포함되지 않은 배지로 교환하였다. 20시간 안정화시킨 후 최종농도가 1, 10, 100, 500 μM 되도록 MPP⁺를 처리하여 세포사멸 효과를 확인하였고 에탄올에 녹인 미성숙 및 성숙 진귤 과피 추출물은 최종농도가 10, 50, 100, 200 μg/ml 되도록 처리하여 세포사멸 보호 효과를 관찰하였다.

3. 세포 생존율 측정

세포 생존율은 trypan-blue를 이용하여 측정하였다. 24 well plate (1 × 10⁵ cells/well)에 분주된 세포에 MPP⁺ 또는 각각의 추출물을 농도별로 처리하여 24시간 배양한 후 세포를 모두 수거하여 0.4% trypan-blue와 섞어 hemo-cytometer를 이용하여 살아있는 세포수와 죽은 세포수를 계수하였다. 아래의 식을 이용하여 생존율을 산출하였다.

$$\text{세포 생존율 (\%)} = \frac{\text{살아있는 세포수}}{(\text{살아있는 세포수} + \text{죽은세포 수})} \times 100$$

4. 세포 독성 평가

시료의 독성을 확인하기 위해 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyl-terazolium bromide (MTT; Sigma, St. Louis, MO, USA) 분석법을 수행하였다. 미성숙 및 성숙 진귤 과피 추출물을 농도별로 처리하여 24시간 배양한 세포 (1 × 10⁵ cells/well)에 MTT용액 (0.2 mg/ml)을 첨가하여 3시간 반응시킨 후 배지를 모두 제거하였다. 생성된 formazan을 dimethyl sulfoxide (DMSO)로 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. Western blot

Phosphate buffered saline (PBS) 수세 후 수확한 세포에 protease inhibitor가 포함된 lysis buffer (20 mM Tris, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1% Triton X-100)를 넣어 30분간 반응한 후 14,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 얻어진 30 μg의 단백질을 10% polyacrylamide gel에서 전기영동하였다. 분리된 단백질은 nitrocellulose membrane에 전이시킨 후 단백질 발현 분석을 위해 anti-mouse PARP (Santa Cruz Biotech, Dallas, TX, USA), anti-rabbit cleaved caspase-3 (Cell signaling, Danvers, MA, USA), anti-mouse beta-actin (Sigma, St. Louis, MO, USA) 항체를 이용하여 반응하였고 enhanced chemiluminescence kit (ECL) 방법으로 확인하였다.

6. 통계 처리

본 실험의 결과는 3회 반복하여 평균 ± 표준편차로 표시

하였다. 통계처리는 Student's *t*-test에 의해 수행되었으며 $p < 0.05$ 인 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. MPP⁺의 신경세포 사멸 효과

퇴행성 신경계 뇌혈관질환의 하나인 파킨슨병은 도파민의 부족으로 발생되어 각종 증상이 유발되는데 이는 뇌 흑질의 신경세포의 사멸과 관련되어 있는 것으로 보고되어 있다 (Gelb *et al.*, 1999; Bae *et al.*, 2010). 뇌졸중, 알츠하이머, 파킨슨병과 같이 신경세포의 사멸로 인해 신경손상이 심각할 경우 완전한 회복이 어려워 이를 예방 및 극복하기 위한 많은 방안들을 모색하기 위해 노력하고 있다. 본 연구에서는 신경손상을 보호하기 위한 기능성 소재를 찾아보고자 진귤 과피 추출물의 신경세포 사멸 보호 효과를 조사하였다. 파킨슨병과 연관된 세포사멸 기전을 연구하기 위해서 주로 사용하는 약물은 MPP⁺로 이는 신경독성물질인 MPTP가 뇌혈관장벽을 통과해 세포에서 MPP⁺라는 대사물질로 바뀌어 신경세포에 독성을 유도하는 것으로 알려져 있기 때문이다. 따라서 본 실험에서도 파킨슨병을 유발하기 위해 인간 신경세포인 SH-SY5Y 세

포에 MPP⁺를 사용하여 신경 세포 사멸에 미치는 영향을 알아보고자 trypan blue exclusion 분석을 통해 생존율을 측정하였다. 다양한 농도 (1-500 μ M)의 MPP⁺를 신경세포에 24시간 동안 처리한 결과, 1-50 μ M 농도에서는 세포 사멸 효과가 거의 나타나지 않았고 100 μ M 처리군에서는 57%의 생존율을 보여 유의적으로 세포 생존율이 감소하기 시작하였으며 500 μ M 농도에서는 40%의 낮은 생존율을 나타내었다 (Fig. 1A).

세포사멸 조절은 산화적 스트레스와 같은 다양한 요인에 의해 활성화되는 caspase 신호전달 경로를 통해 이루어진다. 미토콘드리아에서 방출된 cytochrome c, Apaf, caspase-9에 의해 형성된 apoptosome은 세포사멸에 직접적으로 관여하는 caspase-3의 활성화와 poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)의 분절화를 유도하며 세포의 응축이나 핵의 분해 등 구조적인 변화단계를 거치게 된다 (Bredesen *et al.*, 2006; Delivoria-Papadopoulos *et al.*, 2007). MPP⁺에 의한 세포 사멸이 caspase-3의 활성화를 통해 조절되는지 확인하기 위해 사멸 관련 단백질들의 발현을 분석하였다. 그 결과, 대조군에 비해 100 μ M과 500 μ M의 농도로 처리된 MPP⁺ 처리군에서 핵 내에 존재하는 PARP의 분절현상이 관찰되었고 caspase-3의 경우 불활성화 상태에서 사멸이 진행될수록 분절화된 형태로 바뀌게 되어 cleaved 형태의 활성형이 증가되는 것을 확인 할 수 있었다 (Fig. 1B). 이러한 결과는 MPP⁺에 의한 신경세포 사멸이 caspase-3 경로를 통해 조절되고 있음을 보여주는 것이다.

2. 미성숙 진귤 과피 추출물의 신경세포 보호 효과

진귤은 제주도에서 자생하는 재래종 감귤로 이들의 말린 과피인 진피는 한약재의 소재로 널리 사용되고 있다. Citrus속의 성분 및 생리활성 분석을 통해 과육보다는 과피의 중요성이 강조되었고 (Yusof *et al.*, 1990) 다른 식물이 거의 가지고 있지 않은 감귤 특유의 성분인 tangeretin이나 nobiletin 같은 polymethoxylated flavones을 다량 함유하고 있다 (Nogata *et al.*, 2006; Shin *et al.*, 2011). 이들은 수확시기에 따라 생리활성물질의 함유량에 많은 변화를 가지고 있으며 항염, 항산화 효능 외 항비만에 효과적인 것으로 보고되어 있다 (Choi *et al.*, 2007; Shin *et al.*, 2011; Hyon *et al.*, 2010; Kang *et al.*, 2012). 그러나, 진귤과 뇌혈관질환성 신경손상과의 관련성 및 진귤의 성숙되는 정도에 따른 효능에 대해서는 거의 알려져 있지 않다. 따라서 예로부터 약재로 계속하여 사용하고 있는 진귤 과피의 성숙 정도가 신경손상 회복에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 미성숙 진귤 과피와 성숙 진귤 과피 추출물을 이용하여 신경세포 손상에 대한 보호효능을 조사하였다. 먼저 80% 에탄올을 이용하여 추출한 미성숙 과피 추출물과 성숙 과피 추출물의 독성을 확인하기 위해 SH-SY5Y 신경세포에 각각의 추출물을 10 μ g/ml에서 200 μ g/ml까지의 농

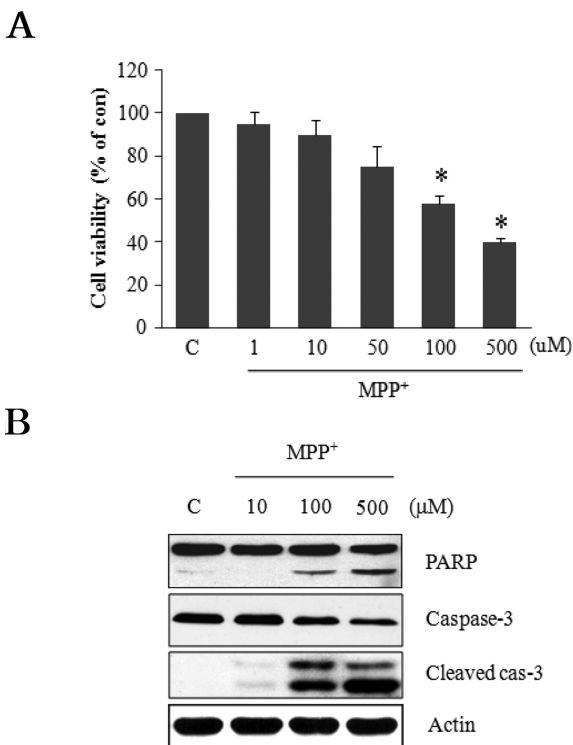


Fig. 1. Induction of caspase-mediated neuronal cell death. (A) Neurotoxicity of MPP⁺ on SH-SY5Y cells by trypan blue exclusion. Data are represented as mean \pm SD of 3 separate experiments. * $p < 0.05$ vs control (B) Expression of apoptosis-related proteins by western blot analysis.

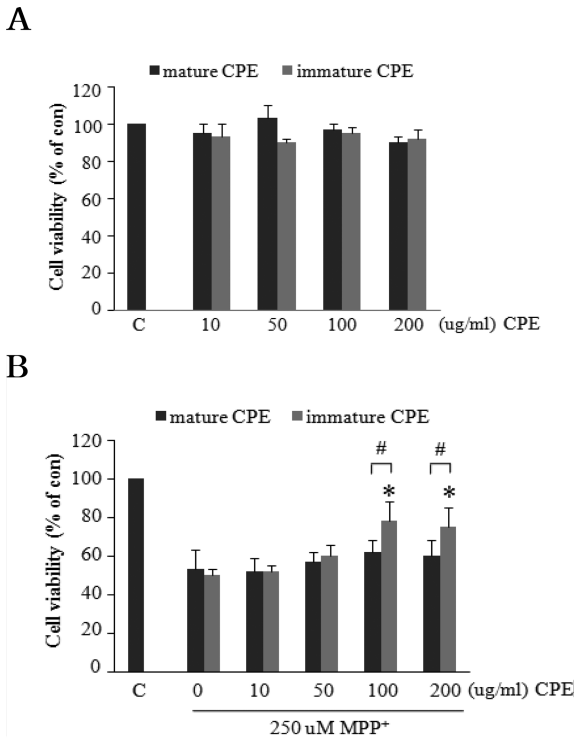


Fig. 2. Protective effect of immature CPE on the MPP⁺-induced neurotoxicity. (A); Measurement of cytotoxicity of immature CPE or mature CPE. (B); Effects of immature CPE or mature CPE on MPP⁺-induced neuronal cell death. Data are represented as mean ± SD of 3 separate experiments. **p* < 0.05 vs MPP⁺-treated cells. #*p* < 0.05 vs mature CPE-treated cells. CPE; *Citrus sunki* peel extract.

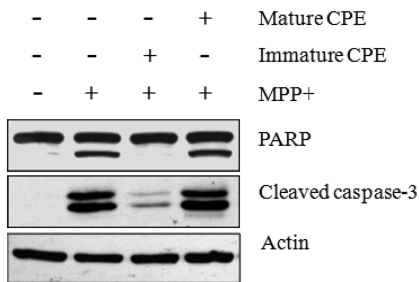


Fig. 3. Inhibitory effect of immature CPE on the expression of apoptosis-related proteins. CPE; *Citrus sunki* peel extract.

도로 처리하였다. 그 결과, 미성숙 및 성숙 진귓 과피 추출물을 처리한 실험군 모두에서 대조군과 유사한 생존율을 나타내는 것으로 보아 세포 독성에는 아무런 영향을 미치지 않았다 (Fig. 2A). 미성숙 및 성숙 진귓 과피 추출물의 신경세포 보호 효과를 살펴보기 위해 신경세포에 각각의 추출물을 농도별로 30분 전처리한 후 250 μM의 MPP⁺를 처리하였고 24시간동안 배양한 후 이들의 생존율을 trypan blue exclusion 으로 측정하였다. 성숙 진귓 과피 추출물을 처리한 경우,

10 μg/ml 농도에서는 50%의 생존율을, 200 μg/ml 의 농도에서는 58%의 생존율을 나타내었다. 이는 52% 생존율을 보인 MPP⁺ 처리군과 별다른 차이를 보이지 않는 결과로서 성숙 진귓 과피 추출물의 신경세포 보호 효과는 관찰 할 수 없었다. 반면, 미성숙 진귓 과피 추출물의 경우 100 μg/ml 과 200 μg/ml 의 농도로 처리한 후 세포의 생존율은 78%로 회복되었고 48%의 생존율을 보인 MPP⁺ 처리군에 비해 매우 유의 있는 결과를 나타내었다 (Fig. 2B). 이러한 결과는 성숙 진귓 과피 추출물에 비해 미성숙 진귓 과피 추출물이 보다 강한 보호 효능을 가지고 있음을 보여주는 것으로 미성숙 진귓 과피 추출물이 가지는 30%의 보호 효능은 기존의 연구들과 비교해 볼 때 유사한 결과를 나타내었다. 특히, 신경계세포인 SH-SY5Y 세포나 PC12 세포에서 MPP⁺로 세포사멸을 유도한 연구들 중 LiuWei dihuang 처리는 MPP⁺ 처리군의 47%의 생존율이 82%로 회복되었고, lycopene은 62%의 생존율을 가지는 MPP⁺ 처리군에 비해 20%의 보호효과를 나타내었다 (Yi *et al.*, 2013; Tseng *et al.*, 2014). 차의 폴리페놀 성분으로 널리 알려진 epigallocatechin-3-gallate (EGCG)의 경우 30%의 보호 효능을, 황백 (*Phellodendri cortex*) 추출물의 경우 10% 정도의 보호 효과를 가지는 것으로 보고되어 있다 (Jung *et al.*, 2009; Ye *et al.*, 2012). 기존에 보고된 물질들의 생리활성 정도와 처리농도의 범위, 세포의 특이적인 환경조건들로 인해 보호 효과는 10-35% 정도로 다양하게 나타나고 있으며 이들의 신경세포 손상 보호 효능과 비교해 볼 때 30%의 보호 효과를 가지는 미성숙 진귓 과피 추출물의 경우 일정 수준 이상의 신경 손상 보호 효능을 발휘하는 것으로 생각된다. 보다 더 정확한 효능 검증을 위해 파킨슨 증상을 완화시키는 약물과의 비교분석 및 이들의 조절 기전에 대한 지속적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

진귓 과피 추출물의 세포손상 보호 효과를 검증하기 위해 세포 사멸 관련 단백질들의 발현양상을 분석하였다. 성숙 과피 추출물 처리군의 경우, MPP⁺ 처리군과 마찬가지로 PARP의 분절현상과 활성화되는 cleaved caspase-3의 발현양이 증가되는 것을 확인 할 수 있었다. 미성숙 과피 추출물의 경우 PARP의 분절현상이나 활성화되는 cleaved caspase-3의 발현양을 거의 관찰 할 수 없는 대조군과 유사한 발현양상을 보여 주었다 (Fig. 3).

일반적으로 과실은 성숙되는 정도에 따라 phytochemical은 많은 변화를 가진다. 제주채래종 감귓 과피의 경우도 수확 시기가 늦어짐에 따라 폴리페놀의 함량이 감소되어 항산화 효능이 약화되는 것을 보고하였고 (Kim *et al.*, 2009). Shin등 (2011)의 연구에 따르면, 일반적인 감귓이 가진 9가지의 플라보노이드 성분 중 진귓에서 5가지를 확인하였다. 성숙과 미성숙 과피의 hesperidin 함유량이 유사한 경우를 제외한 모든 플라보노이드성분 (tangeretin, nobiletin, sinensetin) 분석에서 성

숙과피보다 미성숙과피에서 3-5배정도의 높은 함유량을 가진다고 보고하였다 (Choi *et al.*, 2007; Shin *et al.*, 2011). 이처럼 성숙되면서 변화하게 되는 생리활성 물질들의 함량 차이로 인해 풍부한 플라보노이드성분을 함유한 미성숙 진귤 과피 추출물이 성숙 진귤 과피 추출물에 비해 신경손상에 대한 보호 효과가 유의적으로 나타나는 것으로 추측된다.

이상의 결과로 볼 때 미성숙 진귤 과피 추출물이 caspase-3 dependent pathway를 통해 MPP⁺ 유도성 신경세포 사멸에 대한 보호 효과를 가지며 이는 뇌혈관질환 예방을 위한 기능성 소재로서의 가능성을 보여주는 것이다. 그러나 미성숙 진귤 과피가 가지는 보다 구체적인 성분 분석에 의한 효능과 동물모델을 통한 보호 효과는 추후 연구를 통해 밝혀야 할 것으로 보인다.

감사의 글

이 논문은 2011년도 제주대학교 학술연구지원사업의 지원에 의해 이루어진 연구결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Bae KR, Doo AR, Kim SN, Park JY, Park HJ, Lee HJ and Kwon KR.** (2010). Neuroprotective effects of bee venom, which removes high molecular elements against MPP⁺-induced human neuroblastoma SH-SY5Y cell death. *Korean Journal of Oriental Internal Medicine.* 31:254-263.
- Bredesen DE, Rao RV and Mehlen P.** (2006). Cell death in the nervous system. *Nature.* 443:796-802.
- Choi SY, Ko HC, Ko SY, Hwang JH, Park JG, Kang SH, Han SH, Yoon HS and Kim SJ.** (2007). Correlation between flavonoid content and the NO production inhibitory activity of peel extracts from various citrus fruits. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 30:772-778.
- Chung SK, Kim SH, Choi YH, Song EY and Kim SH.** (2000). Status of citrus fruit production and view of utilization in Cheju. *Food Industry Nutrition.* 5:42-52.
- Delivoria-Papadopoulos M, Gorn M, Ashraf QM and Mishra OP.** (2007). ATP and cytochrome c-dependent activation of caspase-9 during hypoxia in the cerebral cortex of newborn piglets. *Neuroscience Letters.* 429:115-119.
- Gelb DJ, Oliver E and Gilman S.** (1999). Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Archives Neurology.* 56:33-39.
- Hyon JS, Kang SM, Senevirathne M, Koh WJ, Yang TS, Oh MC, Oh CK, Jeon YJ and Kim SH.** (2010). Antioxidative activities of extracts from dried *Citrus sunki* and *C. unshiu* peels. *Journal of Korean Society Food Science and Nutrition.* 39:1-7.
- Jung YS, Jung HM and Seo UK.** (2009). Neuroprotective effect of metanol extract of phellodendri cortex against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced apoptosis in PC12 cells. *Korean Journal of Oriental Internal Medicine.* 30:51-63.
- Kang SH, Lee YJ, Lee CH, Kim SJ, Lee DH, Lee YK and Park DB.** (2005). Physiological activities of peel of Jeju indigenous *Citrus sunki* Hort. Tanaka. *Korean Journal of Food Science and Technology.* 37:983-988.
- Kang SI, Shin HS, Kim HM, Hong YS, Yoon SA, Kanh SW, Kim JH, Kim MH, Ko HC and Kim SJ.** (2012). Immature *Citrus sunki* peel extract exhibits antiobesity effects by beta oxidation and lipolysis in high fat diet induced obese mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 35:223-230.
- Kim YD, Senevirathne M, Koh KS, Jeon YJ and Kim SH.** (2009). Reactive oxygen species scavenging activity of jeju native citrus peel during maturation. *Journal of Korean Society Food Science and Nutrition.* 38:462-469.
- Kim YO, Lee SW, Yang SO, Na SW, Kim SK and Chung JH.** (2014). Neuroprotective effects of the extracts from the aerial parts of *Carthamus tinctorius* L. on transient cerebral global ischemia in rats. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 22:46-52.
- Lee HJ, Koo UK, Lee HJ, Lee DH and Mar WC.** (2009). Neuroprotective effects of some plant extracts against oxygen-glucose deprivation induced oxidative cell death on neuronal cell. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 17:341-345.
- McGeer PL and McGeer EG.** (2008). Glial reactions in Parkinson's disease. *Movement Disorder.* 23:474-483.
- Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, Ishii T, Yano M and Ohta H.** (2006). Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. *Bioscience, biotechnology, and Biochemistry* 70:178-192.
- Rock RB and Peterson PK.** (2006). Microglia as a pharmacological target in infectious and inflammatory diseases of the brain. *Journal of Neuroimmune Pharmacology.* 1:117-126.
- Ryu AR, Kim JH and Lee MY.** (2012). Suppressive effect of *Acanthopanax sessiliflorus* extract on the DNA and cell damage by dieldrin. *Korean Journal of Medicinal Crop Science.* 20:245-250.
- Shin HS, Kang SI, Ko HC, Kim HM, Hong YS, Yoon SA and Kim SJ.** (2011). Anti-inflammatory effect of the immature peel extract of Jinkyool(*Citrus sunki* Hort. ex Tanaka). *Food Science and Biotechnology.* 20:1235-1241.
- Tseng YT, Chang FR and Lo YC.** (2014). The chinese herbal formula liuwei dihuang protects dopaminergic neurons against parkinson's toxin through enhancing antioxidative defense and preventing apoptotic death. *Phytomedicine.* 21:724-733.
- Wilms H, Zecca L, Rosenstiel P, Sievers J, Deuschl G and Lucius R.** (2007). Inflammation in Parkinson's diseases and other neurodegenerative diseases: cause and therapeutic implications. *Current Pharmaceutical Design.* 13:1925-1928.
- Yabuki Y, Ohizumi Y, Yokosuka A, Mimaki Y and Fukunaga K.** (2014). Nobiletin treatment improves motor and cognitive deficits seen in MPTP-induced Parkinson model mice. *Neuroscience.* 259:126-141.
- Yacoubian TA and Standaert DG.** (2008). Targets for neuroprotection in Parkinson disease. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1792:676-687.
- Ye Q, Ye L, Xu X, Huang B, Zhang X, Zhu Y and Chen X.** (2012). epigallocatechin-3-gallate suppresses 1-methyl-4-phenylpyridine induced oxidative stress inPC12cells via the

- SIRT1/PGC-1 signaling pathway. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12:82-89.
- Yi F, He X and Wang D.** (2013). Lycopene protects against MPP⁺ induced cytotoxicity by maintaining mitochondrial function in SH-SY5Y cells. *Neurochemistry Research*. 38:1747-1757.
- Yoshigai E, Machida T, Okuyama T, Mori M, Murase H, Yamanishi R, Okumura T, Ikeya Y, Nishino H, Nishizawa M.** (2013). Citrus nobiletin suppresses inducible nitric oxide synthase gene expression in interleukin-1 β -treated hepatocytes. *Biochemistry Biophysical Research Community*. 439:54-59.
- Yusof S, Ghazali HM and King GS.** (1990). Naringin content in local citrus fruits. *Food Chemistry*. 37:113-121.