



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0008370
(43) 공개일자 2012년01월30일

(51) Int. Cl.

A61K 36/88 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0069185

(22) 출원일자 2010년07월16일

심사청구일자 2010년07월16일

(71) 출원인

중앙대학교 산학협력단

서울 동작구 흑석동 221

제주대학교 산학협력단

제주특별자치도 제주시 제주대학로 102 (아라일동, 제주대학교)

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

김소미

제주특별자치도 제주시 대원길 82-5 (오등동)

최형균

경기도 안양시 동안구 부림로 10, 503동 202호 (평촌동, 꿈마을아파트)

김영석

서울특별시 서대문구 이화여대길 52, 신공학과 361호 향미화학실 (대현동, 이화여자대학교)

(74) 대리인

양부현, 김승진

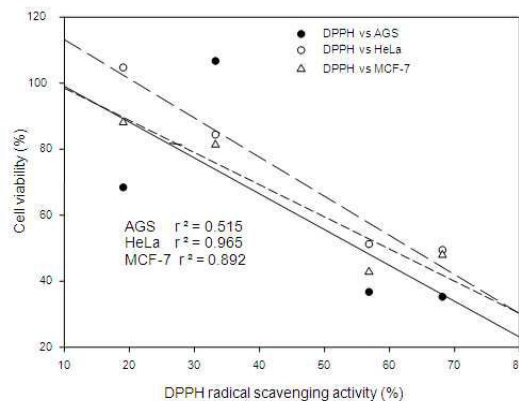
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 백색 피타야 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물

(57) 요약

본 발명은 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물의 신규한 항암 용도에 관한 것이다. 본 발명의 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물은 암세포의 증식을 억제하는 항암효능을 갖는다. 본 발명의 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물은 암의 치료, 예방 또는 개선 용도의 약제학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물로 개발될 수 있다.

대표도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R01-2007-000-20492-0

부처명 한국과학재단

연구관리전문기관

연구사업명 기초연구사업_중견연구자지원사업

연구과제명 Metabolomics를 이용한 국내산 아열대 식물체의 metabolome 분석 및 생리활성과의 상관

관계 규명

기여율

주관기관 중앙대학교 산학협력단

연구기간 2007년 09월 01일 ~ 2010년 08월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 백색 피타야 추출물은 껍질 또는 과육 추출물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 피타야 추출물은 물, 탄소수 1-4 개의 무수 또는 함수 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트 또는 1,3-부틸렌 글리콜의 용매 추출물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 암의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물 형태인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 암의 완화 또는 개선을 위한 기능성 식품 조성물 형태인 것을 특징으로 하는 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 백색 피타야(*Hylocereus undatus*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 수요자들의 합성 항산화제 대한 염려는 천연의 항산화 물질에 대한 요구를 증대시켜왔다(Shahidi 1997). 식용 과실로부터의 과실 주스 및 펄프의 항산화 특성에 대한 다양한 연구결과가 보고되어 왔다(Mokbel and Hashinaga 2006). 과실은 자유 라디칼 소거에 중요한 역할을 하는 화합물이 풍부하기 때문에 이들의 항산화 활성은 주목 받아 왔다. 사과(Wolfe and others 2003), 포도씨(Chidambara-Murthy and others 2002), 딸기(Meyers and others 2003), 일반 야채(Chu and others 2002), 및 라스베리(Liu and others 2002)에 관한 다양한 연구들에 의하면, 이들 과일 및 야채들은 항증식 효과를 갖는다고 보고되어 있다. 그러나, 식물 유래의 다른 식품의 항산화 및 항증식 활성은 잘 연구되어 있지 않고, 아열대 과일의 의약 및 영양학적 값에 대해서 얻을 수 있는 정보는 매우 제한되어 있다.

[0003] 피타야(Pitaya)는 아즈텍 종족에게서 매우 널리 알려진 과일이었다는 것이 역사 문서에 언급되어 있다. 멕시코와 중앙 아메리카 및 남미가 원산지인 이 과일은 서반구에서 오랫동안 소비되어 왔다(Mizrahi and others 1997). 현재 최근의 기후가 피타야의 재배에 적합하게 변화되고 있는 한국의 제주도에서도 재배되고 있다. 피타야의 껍질은 포엽(bract) 또는 비늘(scale)으로 덮여 있어 용과(dragon fruit)으로 불리운다. 이들의 과피

및 펄프 색깔에 기초하여, 피타야는 백색 피타야(*Hylocereus undatus*), 적색 피타야(*H. costaricensis*) 및 노란색 피타야(*Selenicereus megalanthus*)로 분류되어 왔다(Nerd and others 2002, Hoa and others 2006). 피타야 과일은 식품으로서 매우 뛰어난 색깔과 경제적인 가치 이외에도 건강에 유익한 특성을 가졌다는 점 때문에 많은 관심을 끌고 있다(Chen and He 2007, Li and others 2003). 예를 들어, 적색 피타야는 베타시아닌 함유에 의해 부여되는 항산화 특성 뿐만 아니라 항암 효능, 항-염증 및 항-당뇨 효능과 심혈관 질환의 사망률 감소를 포함하여 매우 다양한 효능을 갖는 것으로 보고되었다(Cos and others 2004, Stintzing and others 2002; Wybranice and Mizrahi 2002). 백색 피타야 씨앗의 지방 오일은 심장-보호성, 항-당뇨 및 항균 특성을 갖는 리놀레산(linoleic acid)을 포함하는 것으로 알려져 있다(Das 2000, Szentmihályi 2002). 최근, 적색 및 백색 피타야의 과육 추출물로부터 폴리페놀과 플라보노이드의 함량을 측정한 보고가 있었으며, 적색 과육 추출물에 대해 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 자유 라디칼 소거 활성 및 HeLa 세포에 대한 항증식 활성을 측정 한 결과가 보고되어 있다(Asmah and others, 2008). 또한, 적색 피타야는 B16F10 멜라노마 세포에 의해 유도되는 인간 구강암세포 전이 단계에서 세포독성효과를 보여주었다(Menon and others 1995). 또한, 피타야내의 베타라틴(betalain)에 대한 화학적 연구 노력이 경주되고 있다(Wybranice and Mizrahi 2002, Stintzing and others 2004). 피타야의 건강상의 이점 및 이러한 이점을 부여하는 물질을 확인하려는 시도가 있지만, 피타야의 껍질 추출물에 대한 연구는 거의 이루어져 있지 않다.

[0004] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명자들은 천연물 원천으로부터 항산화 및 항증식 물질을 개발하기 위한 연구의 일환으로써 아열대성 과일인 피타야(Pitaya)의 추출물의 항산화활성 및 항암활성을 분석하였다. 그 결과, 피타야 추출물에 페놀성 화합물 및 플라보노이드 화합물이 매우 풍부하게 포함되어 있어 다양한 종류의 자유 라디칼에 대한 항산화 활성이 뛰어나며, 암세포주의 증식을 효과적으로 억제함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0006] 따라서, 본 발명의 목적은 백색 피타야(*Hylocereus undatus*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물을 제공하는 것에 있다.

[0007] 본 발명의 목적 및 장점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구의 범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물을 제공한다.

[0009] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 상기 백색 피타야 추출물은 백색 피타야의 껍질 또는 과육으로부터의 추출물이다.

[0010] 본 발명에서 백색 피타야 추출물은 천연물로부터 추출물을 추출하는 당업계에서 공지된 통상적인 방법에 따라, 즉, 통상적인 온도, 압력의 조건 하에서 통상적인 용매를 사용하여 분리할 수 있다. 본 발명의 백색 피타야 추출물을 추출하기 위한 추출 용매로는 추출공정에서 일반적으로 사용할 수 있는 용매를 사용할 수 있는데, 예를 들어 물, 탄소수 1-4개의 무수 또는 함수 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트 및 1,3-부틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택되는 용매를 사용하여 추출하는 것이 바람직하다.

[0011] 본 발명의 보다 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 백색 피타야 추출물은 탄소수 1-4개의 무수 또는 함수

저급 알코올을 용매로 사용한 추출물이다.

- [0012] 본 발명의 유효성분 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물은 폴리페놀성 화합물과 플라보노이드 화합물을 포함하고 있으며, 다양한 종류의 암세포에 대해 암세포 증식 억제 활성을 갖는다.
- [0013] 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 조성물은 암의 치료 또는 예방 용도의 약제학적 조성물의 형태로 제조될 수 있다.
- [0014] 본 발명의 다른 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명에서의 치료 대상 암은 특정 암으로 한정되지 않으며, 예를 들어 유방암, 폐암, 위암, 간암, 혈액암, 뼈암, 췌장암, 피부암, 머리 또는 목암(head or neck cancer), 피부 또는 안구 흑색종, 자궁육종, 난소암, 직장암, 항문암, 대장암, 난관암, 자궁내막암, 자궁경부암, 소장암, 내분비암, 갑상선암, 부갑상선암, 신장암, 연조직종양, 요도암, 전립선암, 기관지암 또는 골수암을 들 수 있으며, 보다 바람직하게는 위암, 유방암 또는 자궁경부암이다.
- [0015] 본 발명의 약제학적 조성물에는 유효성분으로서 백색 피타야 추출물 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다.
- [0016] 본 발명의 약제학적 조성물에 포함되는 약제학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0017] 본 발명의 약제학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다. 적합한 약제학적으로 허용되는 담체 및 제제는 *Remington's Pharmaceutical Sciences* (19th ed., 1995)에 상세히 기재되어 있다.
- [0018] 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 한편, 본 발명의 약제학적 조성물의 경구 투여량은 바람직하게는 1일 당 0.001-1000 mg/kg(체중)이다.
- [0019] 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구로 투여되는 경우, 피부에 국소적으로 도포, 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있다.
- [0020] 본 발명의 조성물에 포함되는 유효성분인 백색 피타야 추출물의 농도는 치료 목적, 환자의 상태, 필요기간 등을 고려하여 결정할 수 있으며 특정 범위의 농도로 한정되지 않는다.
- [0021] 본 발명의 약제학적 조성물은 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화 함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0022] 본 발명의 다른 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 조성물은 암의 완화 또는 개선 용도의 기능성 식품 조성물의 형태로 제조될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 기능성 식품 조성물은 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함하며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소 및 조미제를 포함한다. 예컨대, 드링크제로 제조되는 경우에는 유효성분으로서 백색 피타야 추출물 이외에 향미제 또는 천연 탄수화물을 추가 성분으로서 포함시킬 수 있다. 예를 들어, 천연 탄수화물은 모노사카라이드(예컨대, 글루코오스, 프럭토오스 등); 디사카라이드(예컨대, 말토스, 수크로오스 등); 올리고당; 폴리사카라이드(예컨대, 텍스트린, 시클로덱스트린 등); 및 당알코올(예컨대, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등)을 포함한다. 향미제로서 천연 향미제(예컨대, 타우마틴, 스테비아 추출물 등) 및 합성 향미제(예컨대, 사카린, 아스파르탐 등)를 이용할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:
- [0025] (i) 본 발명은 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물의 신규한 항암 용도에 관한 것이다.
- [0026] (ii) 본 발명의 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물은 암세포의 증식을 억제하는 효능을 갖는다.

[0027] (iii) 본 발명의 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물은 암의 치료, 예방 또는 개선 용도의 약제학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물로 개발될 수 있다.

발명의 효과

[0028] 본 발명은 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물의 신규한 항암 용도에 관한 것이다. 본 발명의 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물은 암세포의 증식을 억제하는 항암효능을 갖는다. 본 발명의 백색 피타야 (*Hylocereus undatus*) 추출물은 암의 치료, 예방 또는 개선 용도의 약제학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물로 개발될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1a 내지 도 1c는 백색 및 적색 피타야의 과육 및 껍질 추출물의 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 자유 라디칼 소거 활성과의 상관관계에 관한 결과를 보여준다.

도 1a는 히드록시 라디칼 소거 활성(%) vs. 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과의 관계를 보여준다.

도 1b는 알킬 라디칼 소거 활성(%) vs. 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과의 관계를 보여준다.

도 1c는 DPPH 라디칼 소거 활성(%) vs. 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과의 관계를 보여준다.

도 2는 여러 가지 암세포주의 세포 생존능과 백색 및 적색 피타야 과육 및 껍질 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성과의 상관관계를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0031] 실시예

[0032] 실험 재료 및 방법

[0033] 1. 화합물

[0034] Folin-Ciocalteu 페놀시약, 루틴(rutin), 갈산(gallic acid), 과산화수소(hydrogen peroxide), 황산제1철(ferrous sulfate), DPPH, DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide), AAPH[2,2'-azobis(2-amidinopropane)hydrochloride], 및 4-POBN[α-(4-pyridyl-1-oxide)-N-t-butyl nitron]은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)으로부터 구입하였다. DMSO (Dimethyl sulfoxide) 및 MTT[3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]은 Amresco Inc. (Solon, OH, USA)으로부터 구입하였다. RPMI 1640 배지, DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium), 트립신/EDTA, FBS(fetal bovine serum), 페니실린 및 스트렙토마이신은 Invitrogen Inc. (Grand Island, NY, USA)으로부터 구입하였다. 다른 모든 화합물들과 시약은 분석용 등급의 것을 사용하였다.

[0035] 2. 과일

[0036] 백색 및 적색 피타야(pitaya) 과일은 제주도의 한림공원 근처 농장에서 수집하였다. 모든 과일들을 세척하고 껍질을 조심스럽게 제거하였다. 과육 및 껍질을 작고 얇은 조각으로 자르고, 분석 실험에 사용하기 전까지 -70℃에서 보관하였다.

[0037] 3. 샘플 준비

[0038] 과육 및 껍질 샘플들을 2일간 감압하에 동결건조하고 이어서 분말화하였다. 80% 메탄올에서의 추출은 소니케이션(sonication)과 함께 3일간 상온에서 수행하였다. 생성된 추출물을 Whatman No. 1 필터 페이퍼를 통해 여과시키고 40℃ 감압 로터리 증발기를 사용하여 농축시킨 후에 동결건조하였다. 이들을 DMSO 내에서 용해시키고 PBS(phosphate-buffered saline, pH 7.4)내에서 희석하여 최종 사용 농도로 제조하였다. 각 식물체로부터 얻은 메탄올 추출물에 대해 페놀 화합물 총합량, DPPH 라디칼 소거 활성 및 세포독성을 측정하였다.

[0039] 4. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 수준의 측정

[0040] 총 폴리페놀 및 플라보노이드 수준은 약간의 수정을 가한 Cheung 방법(Cheung and others 2003)에 따라 측정하였다. 샘플 부분 표본(1.5ml)을 0.5 ml의 Folin-Ciocalteu 페놀 시약과 혼합하였다. 5분 후에, 1 ml의 10% (w/v) Na₂CO₃를 각 반응 혼합액에 첨가하였다. 반응은 암조건에서 30분간 수행하였고, 725nm 에서의 흡광도는 UV 1800 분광계(Shimadzu, Tokyo, Japan)를 사용하여 기록하였다. 결과는 갈산 당량(gallic acid equivalent, GAE)(건조된 샘플의 mg GAE/g)으로 표시하였다. 플라보노이드 함량은 공지된 비색분석법(colorimetric assay)을 사용하여 측정하였다(Zhishen and others 1999). 흡광도는 블랭크(PBS)에 대해 510 nm에서 측정하고, 플라보노이드 함량은 루틴 당량(rutin equivalents, RE)(건조된 샘플의 mg RE/g)으로 표시하였다. 모든 분석은 적어도 3회 수행하였다.

[0041] 5. DPPH 라디칼 소거능 (DPPH radical scavenging)

[0042] DPPH 라디칼 소거능은 이미 기술된 방법에 따라 측정하였다(Nanjo and others 1996). PBS 내에서 희석한 각 샘플의 30 μ l 부분 표본 (또는 대조군으로서 PBS 단독)을 에탄올내의 30 μ L DPPH (60 μ M)에 추가하였다. 각각의 피타야 추출물의 최종 농도는 25 μ g/ml이었다. 10 초간 심하게 혼합한 후, 용액을 50 μ L의 테프론 캐필러리 튜브안에 넣고, JES-FA 전자 스핀 공명(ESR, electron spin resonance) 분광기(JEOL, Tokyo, Japan)안으로 삽입하였다. 이어서 스핀 부가생성물을 2 분에 측정하였다. 측정 조건은 다음과 같았다: 중앙 필드 3475 G, 조절 진동수 100 kHz, 조절 진폭 2G, 마이크로웨이브 전력 5 mW, 게인(gain) 6.3×10^5 및 온도 297 K. 피타야 추출물의 라디칼 소거능은 다음의 공식에 따라 계산하였다: 소거 속도(scavenging rate) = $(h_0 - h_x)/h_0 \times 100\%$, 여기에서 h_0 및 h_x 는 각각 추출물을 포함하고 있는 샘플 또는 포함하지 않는 샘플의 ESR 시그널 강도이다.

[0043] 6. 히드록실 라디칼 소거능

[0044] 히드록실 라디칼(hydroxyl radical)은 펜톤 반응(Fenton reaction)에 의해 생성되고 니트론 스핀 트랩(nitron spin trap) DMPO 와 빠르게 반응하였다. 생성된 DMPO-OH 반응부가물은 ESR에 의해 측정하였다(Rosen and Rauckman 1984). ESR 스펙트럼은 20 μ L의 0.3 M DMPO, 20 μ L의 10 mM FeSO₄ 및 20 μ L의 10 mM H₂O₂를 첨가한 포스페이트 완충용액(pH 7.4)으로 혼합한 후 2.5 분에 다음의 조건하에서 측정하였다: 중앙 필드 3475 G, 조절 진동수 100 kHz, 조절 진폭 2 G, 마이크로 웨이브 전력 1 mW, 게인(gain) 6.3×10^5 및 온도 298 K. 각 피타야(pitaya) 추출물의 최종 농도는 2 mg/ml 이었다. 피타야 추출물의 라디칼 소거능은 다음의 공식에 따라 계산하였다: 소거 속도(scavenging rate) = $(h_0 - h_x)/h_0 \times 100\%$, 여기에서 h_0 및 h_x 는 각각 추출물을 포함한 샘플과 추출물을 포함하지 않은 샘플의 ESR 시그널 강도이다.

[0045] 7. 알킬 라디칼 소거능

[0046] 알킬 라디칼은 AAPH에 의해 생성되었다. 40 mM AAPH, 40 mM 4-POBN 및 PBS (pH 7.4)으로 희석하여 지시된 농도로 제조한 테스트 샘플을 함유하는 반응 혼합물을 37℃의 수조에서 30 분간 인큐베이션하고(Hiramoto and others 1993), 테프론 캐필러리 튜브에 넣었다. 각 피타야 추출물의 최종 농도는 200 μ g/ml이었다. 스핀 부가 생성물은 ESR 분광기를 사용하여 기록하였다. 다음의 측정 조건을 사용하였다: 중앙 필드 3475 G, 조절 진동수 100 kHz, 조절 진폭 2 G, 마이크로웨이브 전력 10 mW, 게인(gain) 6.3×10^5 , 및 온도 298 K. 피타야 추출물의 라디칼 소거능은 다음의 공식에 따라 계산하였다: 소거 속도(scavenging rate) = $(h_0 - h_x)/h_0 \times 100\%$, 여

기에서 h_0 및 h_x 는 각각 추출물을 포함한 샘플과 추출물을 포함하지 않은 샘플의 ESR 시그널 강도이다.

8. 세포의 배양

암세포주 AGS (인간 위암 세포주), HeLa (인간 자궁경부암 세포주), 및 MCF-7 (인간 유방암 세포주)는 한국 세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)으로부터 얻었다. 이들 세포주들을 10%(v/v) 열-불활성화 FBS (fetal bovine serum), 100 units/ml의 페니실린, 및 100 μ g/ml의 스트렙토마이신이 첨가된 DMEM 또는 RPMI 1640 배지를 이용하여 습화된 인큐베이터내에서 37°C, 5% CO₂ 분위기하에서 배양하였다.

9. 암세포의 생존능 분석

피타야 추출물의 다양한 암세포주임 생존능에 대한 영향은 MTT 비색 분석법에 의해 측정하였다(Hansen and others 1989). 간략하게 설명하면, 대수기에 있는 암세포를 96-웰 플레이트(웰 당 2×10^3 내지 1×10^4 세포)에 분주하였다. 추출물의 다양한 농도(125 내지 1000 μ g/mL) 또는 표준 물질(케르세틴(quercetin); 12.5 내지 200 μ M/mL)의 존재하에서 72 시간 동안 인큐베이션하였다. 0.1 mg의 MTT를 각 웰에 추가하고 세포들을 37°C에서 4 시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 성장 배지를 조심스럽게 제거하였고, 형성된 포르마잔 결정을 용해시키기 위해 DMSO(150 μ l)를 각 웰에 첨가하였다. 570 nm에서의 흡광도는 마이크로플레이트 리더(Tecan, Salzburg, Austria)를 사용하여 즉시 기록하였다. 세포 생존능은 처리하지 않은 대조군 세포에 대해 백분율로서 표시하였다.

10. 생-활성 인덱스(bioactivity index) 측정

생-활성 지수(bioactivity index, BI)는 소비자가 유익한 특성에 기초하여 과일 또는 야채를 선택하는데 사용할 수 있다. 또한, 이는 전염병학 연구에 있어서 랭킹 데이터에 대한 도구로서 사용될 수 있다(Sun and others 2002). 최근의 연구에 의하면 BI는 다음의 방정식에 의해 결정되었다: $BI = (\text{총 항산화 활성 값} + \text{항증식 활성 값})/2$, 여기에서 총 항산화활성 값 = 샘플 값/가장 높은 항산화 값, 항증식 활성 값 = 가장 높은 IC₅₀ 값/샘플 IC₅₀ 값.

11. 통계적 분석

모든 분석은 3회 반복 수행하였고 데이터는 평균 $\pm$ SD 값으로 표현하였다. IC₅₀ 값은 용량-반응 곡선으로부터 계산하였고, 필요한 경우 다음의 공식을 사용하였다: $Y = 100 \cdot A1 / (X + A1)$, 여기에서 $A1 = IC_{50}$, $Y = \text{반응}$ 및 $X = \text{억제 농도}(Y = 100\%, X = 0 \text{인 경우})$. IC₅₀ 값은 paired Student's t-test에 의해 평가하였다. 시그마 플롯 소프트웨어 Version 9.0 (Jandel CoRPP., San Raphael, CA, USA)을 사용한 변수 회귀 분석에 의해 독립적인 변수간에 통계학적으로 유의한 관계가 확인되었다. p -값 < 0.05 를 통계학적으로 의미있는 것으로 간주하였다. 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 세포 생존능 비율 사이의 관련성을 분석하기 위해 시그마 스테트 소프트웨어 Version 3.1 (Jandel CoRPP., San Raphael, CA, USA)을 사용하여 피어스 상관 분석(Pearson's correlation analysis)을 행하였다.

실험결과

1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

적색 및 백색 피타야(pitaya)의 과육 및 껍질의 총 페놀 성분 함량은 Folin-Ciocalteu 방법에 따라 측정하였다(Wu and others 2006). 적색 피타야의 껍질 및 과육으로부터의 추출 가능한 총 페놀 성분의 함량은 각각 14.82 ± 1.07 mg GAE/g 및 4.91 ± 0.55 mg GAE/g 이었고, 적색 피타야의 경우는 각각 15.94 ± 0.93 mg GAE/g 및 3.52 ± 0.60 mg GAE/g 이었다. 표 1에는 상이한 피타야 추출물에서 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 %수율을 나타내었다. 표 1에서 나타난 바와 같이, 적색 피타야 껍질(red pitaya peel, RPP) 및 백색 피타야 껍질(white

pitaya peel, WPP)의 메탄올 추출의 폴리페놀 함량은 적색 피타야 과육(red pitaya flesh, RPF) 및 백색 피타야 과육 (white pitaya flesh, WPF)의 것 보다 약 3-배 및 5-배 높았다. RPP는 플라보노이드 함량이 가장 높았고(18.16 ± 1.00 RE/g), 이어서, WPP (14.33 ± 0.58 RE/g), RPF (9.56 ± 0.11 RE/g), 및 WPF (3.52 ± 0.12 RE/g) 순 이었다.

표 1

Samples	Extract	% yield	Total polyphenol content (mg GAE/g)	Total flavonoid content (mg RE/g)
Red pitaya	peel	1.4	14.82 ± 1.07	18.16 ± 1.00
	flesh	5.2	4.91 ± 0.55	9.56 ± 0.11
White pitaya	peel	1.3	15.94 ± 0.93	14.33 ± 0.58
	flesh	6.1	3.52 ± 0.60	3.52 ± 0.12

상기 표 1에서 결과는 평균±표준편차로서 표현하였다. 대조군과 비교한 *P < 0.05이었다.

종합하여 설명하면, RPP 및 WPP는 폴리페놀과 플라보노이드의 함량은 비슷한 수준이었으며, 반면 RPF는 WPF에 비해 더욱 많은 양의 폴리페놀과 플라보노이드를 함유하고 있었다.

2. 자유 라디칼 소거 활성

항산화 활성 평가의 통상적인 방법은 오직 하나의 특성에만 특이적이기 때문에 생물학적 물질의 항산화 활성을 평가하는 때에 주요한 이슈 중의 하나는 분석 방법의 선택이다. 많은 화학적 분석 방법은 특정 자유 라디칼, 예를 들어 수퍼옥사이드 음이온 또는 히드록실 또는 퍼옥시 라디칼에 의한 타겟 기질의 산화를 테스트되는 물질이 억제하는 능력을 측정한다(Hassimotto and others 2005). ESR은 반응성 종(species)을 민감하고, 직접적이며 정확하게 모니터링할 수 있는 것으로 알려져 있기 때문에(Guo and others 1999), 카테킨을 표준물질로 사용하여, 적색 및 백색 피타야 과육 및 껍질의 80% 메탄올 추출물의 DPPH, 히드록실 및 알킬 라디칼 소거능과 비교하는데 사용하였다.

3. DPPH 라디칼 소거능

DPPH는 프로톤 라디칼 소거제에 노출시키면 이의 수준이 크게 감소하는 안정한 자유 라디칼이다(Sanchez-Moreno 2002). 하기 표 2에서 보여지는 바와 같이, WPP의 80% 메탄올 추출물은 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었고($68.12 \pm 2.87\%$), 이어서, RPP ($56.85 \pm 5.65\%$), RPF ($33.25 \pm 1.84\%$), 및 WPF ($23.83 \pm 3.33\%$)이었다. 여기서 모든 추출물들의 농도는 $25 \mu\text{g/ml}$ 이었다. 예상된 바와 같이, 카테킨(catechin)은 우수한 항산화 활성($10 \mu\text{g/ml}$ 에서 83.76 ± 2.3)을 나타내었다. 추출물의 페놀성 함량과 DPPH 라디칼 소거 활성 간에는 명확한 상관성이 존재하였다: 선형 상관계수, $r^2 = 0.949$ (도 1).

페놀 성분들은 과일에서 공통적으로 발견되고 항산화 활성을 나타내는 것으로 보고되고 있는데, 이는 이들의 페놀 부분의 반응성으로부터 유래한 것이며 수소 또는 전자 주기를 통해 자유 라디칼을 소거한다고 알려져 있다(Shahidi and Wanasundara 1992). DPPH 시스템에서 RPP와 비교하여 WPP의 보다 강한 항산화 활성은 WPP가 더 높은 수준의 폴리페놀 함량을 나타내는 것에 기인한다: 플라보노이드 함량에 대한 상관계수 ($r^2 = 0.785$)는 폴리페놀의 것 보다 낮았다(도 1). 반면에 RPP는 WPP에 비해 높은 플라보노이드 함량을 나타내었다(표 1 참조). 따라서, WPP는 DPPH 자유 라디칼 소거제로서 더 유용할 것으로 보여진다.

4. 히드록실 라디칼 소거활성

본 실험에서 $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ 시스템내에서 생성된 히드록실 라디칼은 DMPO-형성 스핀 부가생성물에 의해 포집되었고,

ESR 분광기(Saito and others 2008)를 사용하여 측정하였다. 식물로부터 유도된 페놀성 화합물들은 페놀성 화합물들의 산화 생성물은 알데히드 및 다이머들이다(Halliwel and Gutteridge 1999). 표 2에 나타난 바와 같이, RPP, RPF, WPP 및 WPF 추출물의 소거 활성은 각각 $64.45 \pm 5.29\%$, $47.14 \pm 4.47\%$, $62.12 \pm 5.36\%$, 및 $58.85 \pm 3.82\%$ 이었다. 추출물의 농도는 모두 2 mg/mL 이었다. 카테킨(catechin)은 0.1 mg/mL의 농도에서 $81.11 \pm 1.8\%$ 의 히드록실 라디칼 소거 활성을 나타내었다. RPP 및 WPP 모두 다량의 폴리페놀과 플라보노이드를 함유하고 있으므로 수급할 만한 활성을 나타내었다. 반면, WPF는 가장 적은 양의 폴리페놀과 플라보노이드를 함유하고 있음에도 불구하고 RPF보다 높은 활성을 보였다. 따라서, 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 히드록실 라디칼 소거 활성간에는 뚜렷한 상관관계가 확인되지는 않았다. 도 1에 보여지는 바와 같이, 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 히드록실 라디칼 소거 활성 간의 상관관계는 매우 약하였다: $r^2 = 0.496$ 및 $r^2 = 0.224$. 이들의 높은 반응성 때문에 히드록실 라디칼은 비-장소-특이적 방법에서 산화적 방어를 부여하는 항산화 분자의 능력을 정확하게 반영하지 못 할 수도 있다(Adebajo and Gesser 2001). 그럼에도 불구하고 본 실험 결과는 적색 및 백색 피타야 과육 및 껍질 메탄올 추출물이 히드록실 라디칼에 대해 어떠한 방어를 제공할 수 있다는 것을 암시한다.

표 2

Samples	Extract	Total antioxidant %				Antiproliferative IC ₅₀ (μg/mL)				Rank
		DPPH (25 g/mL)	Hydroxyl (2 mg/mL)	Alkyl (200 μg/mL)	Score (on DPPH)	AGS	HeLa	MCF-7	Score (on AGS)	
Red	Peel	56.85±5.6	64.45±5.2	49.98±2.5	0.83	444	634	442	0.95	0.89
	Flesh	33.25±1.8	47.14±4.4	33.84±4.6	0.48	9931	1090	1124	0.042	0.27
White	Peel	68.12±2.8	62.12±5.3	42.36±5.0	1	421	621	477	1	1
	Flesh	23.83±3.3	58.85±3.8	27.62±5.6	0.34	773	3523	1588	0.54	0.45
Standard	Catechin	83.76±1.3	80.18±3.1	90.35±1.5						
	Quercetin					22.4	48.6	67.7		

5. 알킬 라디칼 소거 활성

알킬 라디칼은 다양한 탄화수소 반응에서 주요한 중간체이고, ESR에 의해 쉽게 검출될 수 있다(Kim and others 2010). DPPH 라디칼 소거 활성과 유사하게, RPP 및 WPP 추출물은 RPF 및 WPF 추출물의 것($33.84 \pm 4.61\%$ 및 $27.62 \pm 5.60\%$)과 비교하여 약간 높은 정도의 라디칼 소거 활성을 나타내었다($49.98 \pm 2.52\%$ 및 $42.36 \pm 5.00\%$). 실험에 사용한 추출물들의 농도는 모두 200 μg/mL 이었다. 카테킨(catechin)은 12.5 μg/mL의 농도에서 강한 알킬 라디칼 소거능 ($90.25 \pm 3.1\%$)을 나타내었다(표 2 참조). 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 알킬 라디칼 소거 활성 사이의 상관 관계는 유의성이 매우 높은 수준이었다: $r^2 = 0.821$ 및 $r^2 = 0.977$ (도 1). 상기 결과는 보편적이지는 않지만 플라보노이드도 매우 중요한 항산화성 페놀 화합물이라는 것을 암시한다. 페놀성 항산화제가 과육시 라디칼을 포획하여 유기물질을 산화적 분해로부터 보호한다는 것이 공지되어 있으나, 자기 산화는 연쇄 담체로서 작용하는 과육시 및 알킬 라디칼을 포함하고 있기 때문에 알킬 라디칼을 포집하여 산화적 분해로부터 보호하는 것 또한 중요하다(Nisizawa and others 1987). 소거능의 면에서, 적색 및 백색 피타야의 껍질(과육이 아닌)이 알킬 라디칼 소거능의 풍부한 원천으로서 가능성을 보여주었다.

6. 피타야 추출물의 암세포주의 생존능에 미치는 효과

적색 및 백색 피타야의 과육 및 껍질 추출물의 3가지 종류의 암세포주, 인간 위암 세포주(AGS), 인간 자궁경부암 세포주(HeLa), 및 인간 유방암 세포주(MCF-7)에 대한 인 비트로 성장을 억제하는 효과에 대해서는 상기 표 2에 나타내었다. 각기 다른 피타야 추출물은 각기 다른 종류의 세포주에 대해 각기 다른 항증식 효과를 나타내었다. 이들 추출물은 다음과 같은 순위로 암세포주에 대해 생존 억제 효능을 나타내었다: WPP>RPP>RPF>WPF (표 2). 특히, 백색 및 적색 피타야의 껍질 추출물이 인간위암세포주 AGS와 유방암세포주 MCF-7에 대해 뛰어난 증식 억제 활성을 나타내었다. 항증식 활성이 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 상관관계가 있다는 것이 관찰되었다. 테스트된 추출물의 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 세포 생존능 비율을 측정하였다.

표 3은 추출물에 대해 행해진 모든 분석에 대한 Pearson's 상관 계수를 보여준다.

표 3

Extract	Content	HeLa	MCF-7	AGS
Red Peel	Polyphenol	-0.878 ^b	-0.96 ^b	-0.82 ^b
	Flavonoid	-0.878 ^b	-0.96 ^b	-0.82 ^b
Red Flesh	Polyphenol	-0.448	-0.133	-0.623 ^a
	Flavonoid	-0.448	-0.133	-0.623 ^a
White Peel	Polyphenol	-0.81 ^b	-0.91 ^b	-0.938 ^b
	Flavonoid	-0.81 ^b	-0.91 ^b	-0.938 ^b
White Flesh	Polyphenol	-0.261	-0.69 ^a	-0.806 ^b
	Flavonoid	-0.261	-0.69 ^a	-0.806 ^b

[0074]

[0075] ^a 는 $p < 0.05$ 에서 유의성 있는 값이고, ^b 는 $p < 0.01$ 에서 유의성 있는 값을 의미한다.

[0076] HeLa, AGS, 및 MCF-7 암세포주의 세포 생존능 비율과 RPP, RPF, WPP, 및 WPF의 총 폴리페놀 함량과의 음성(negative) 상관관계 발견되었다($r = -0.133$ 내지 -0.960). 이와 유사하게, 백색 및 적색 피타야 추출물의 플라보노이드 함량과 AGS, HeLa, 및 MCF-7 세포의 증식 사이의 음성(negative) 상관 계수가 발견되었다. 전체적으로, 테스트된 세포주에 관계없이 피타야의 껍질 추출물이 과육 추출물에 비해 높은 암세포 항증식 활성을 나타내었다. 이들 결과들은 피타야 추출물들의 암세포주에 대해 항-증식 효과가 이들이 함유하고 있는 폴리페놀 및 플라보노이드의 조합된 효과로부터 유래된 것일 수 있다는 것을 암시한다.

[0077] 7. 항산화 활성 및 항증식 효과 사이의 상관관계

[0078] 본 발명의 실험결과 고함량의 폴리페놀과 DPPH 라디칼 소거 활성을 갖는 WPP 추출물이 암세포주에 대해 가장 강력한 항증식 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다. 그러나, 항산화 활성과 항증식 영향 사이에는 직접적인 상관관계는 없었다. 상이한 피타야 추출물의 암세포에 대한 항증식 활성은 항산화 활성과 뚜렷한 상관관계를 보여주지는 못하였다(도 2). DPPH 라디칼 소거활성은 HeLa 세포 성장 IC_{50} 에 대해 가장 강력한 상관관계를 보여주었다($r^2 = .0965$). 피타야 추출물에 의한 암세포 증식의 억제 는 이들의 폴리페놀 함량만으로는 설명될 수 없다. 이는 특정 페놀 화합물이 추출물의 항증식 활성에 개별적으로 기여하는 것이 아니며, 대신 폴리페놀 및 플라보노이드 및/또는 추출물에 존재하는 다른 피토케미칼(phytochemical) 조합의 상승적 작용으로부터 얻어지는 결과일 수 있다는 것을 암시한다. 또한, 상기 결과는 테스트된 피타야 추출물에 존재하는 폴리페놀이 중요한 항산화 역할을 수행한다는 것을 암시한다.

[0079] 8. 생-활성 지수의 중요성

[0080] 수요자의 과일 구매시에 어떤 과일을 선택할지에 대해 간단한 참조를 제공할 수 있는 BI(생-활성 지수, bioactivity index)를 제공한다. WPP는 DPPH 라디칼의 가장 강력한 소거자이고 대부분의 테스트된 암세포주의 성장 억제자이기 때문에, 다른 추출물들의 BI 값의 산출에 대한 상대적인 참조로써 사용되었다. 표 2에 나타난 바와 같이, 백색 피타야의 껍질 및 과육 추출물은 대응하는 적색 피타야 추출물에 비해 더 높은 BI 값을 가졌다. 총 항산화 활성 또는 항증식 활성 자체와 비교하여 BI는 추출물 활성 판단에서 더 유용한 값이다.

[0081] 9. 결론

[0082] 결론적으로, 본 발명자들은 적색 및 백색 피타야 과육 및 껍질의 폴리페놀 및 플라보노이드 함량에 있어서 상당한 차이가 있다는 것을 증명하였고, 백색 피타야의 껍질에 다양한 항산화 및 항증식 물질들이 풍부하게 존재한다는 것을 실험적으로 확인하였다. 또한, 피타야 추출물들은 암세포주의 항-증식 효과를 나타내어, 암과 같은 만성질환의 예방 및 치료를 돕는 매우 가치 있는 물질임을 증명하였다.

[0083] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한

구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0084] **참조문헌**

- [0085] Adebajo MO, Gesser HD. 2001. ESR study of alkyl radicals adsorbed on porous Vycor glass. I. Build up of methyl and ethyl radicals. *App SuRPF Sci* 171:120-4.
- [0086] Allothman M, Bhat R, Karim AA. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food chem* 115:785-98.
- [0087] Asmah R, Laili MN, Fadzelly ABM. 2008. Free radical scavenging activity of two *Hylocereus* species (Cactaceae) and their effect on the proliferation of HeLa and MDA-MB-231 cancer cell lines. *Proceedings of the 7th Joint Meeting of GA, AFERPP, ASP, PSE & SIF, Planta medica* 74: PA 5.
- [0088] Chen X, He B. 2007. Oxygen free radical scavenging activity and anti-lipid peroxidation of tea polyphenol. *Zhong Yao Cai* 21:141-5
- [0089] Cheung LM, Cheung PC, Ooi VE. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem* 81:249-55.
- [0090] Chidambara-Murthy KN, Singh RPP, Jayaprakasha GK. 2002. Antioxidant activities of grape *Vitis vinifera* pomace extracts. *J Agri Food Chem* 50:5909-14.
- [0091] Chu Y, Sun J, Wu X, Liu RH. 2002. Antioxidant and antiproliferative activity of common vegetables. *J Agric Food Chem* 50:6910-16.
- [0092] Cos P, Bruyne DT, Hermans N, Apers S, Berghe DV, Vlietinck AJ. 2004. Proanthocyanidins in health care: current and new trends. *Curr Medi Chem* 11:1345-59.
- [0093] Das, UN. 2000. Beneficial effects of n-3 fatty acids in cardiovascular diseases: but, why and how? *Prostag Leukotr Ess* 63:351-2.
- [0094] Guo Q, Zhao B, Shen S, Hou J, Hu J, Xin W. 1999. ESR study on the structure antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers. *Biochim Biophys Acta* 1427:13-23.
- [0095] Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. Chemistry of biologically important radicals, In: *Free Radicals in Biology and Medicine* (3rd edn). New York: Oxford University Press. p 48-82.
- [0096] Hansen MB, Nielsen SE, Berg K. 1989. Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. *J Imm Meth* 119:203-10.
- [0097] Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM. 2005. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and Commercial frozen fruit pulps. *J Agri Food chem* 53:2928-35.
- [0098] Hiramoto K, Johkoh H, Sako K, Kikugawa K. 1993. DNA breaking activity of the carbon-centered radical generated from 2,2'-azobis(2-amidinopropane) hydrochloride (AAPH). *Free Radi Res Comm* 19:323-32.
- [0099] Hoa TT, Clark CJ, Waddell BC, Woolf AB. 2006. Postharvest quality of Dragon fruit (*Hylocereus undatus*) following disinfesting hot air treatments. *Postharvest Bio Tech* 41:62-9.
- [0100] Huang X, Dai J, Fournier J, Ali AM, Zhang Q, Frenkel K. 2002. Ferrous ion autoxidation and its chelation in iron-loaded human liver Hep G2 cells. *Free Radi Bio Med* 32:84-72.
- [0101] Kim H, Moon JY, Kim HJ, Lee DH, Cho M, Choi HK, Kim YS, Mosaddik MA, Cho SK. 2010;. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chem* 121: 429-36.
- [0102] Li SF, Liu XM, Wu JJ, Chen ZY, Shu N, Zhu ZW. 2003. The development of pitaya. *Sci Tech Food Indus* 7:88-90.
- [0103] Liu M, Li XQ, Weber C, Lee CY, Brown J, Liu RH. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of

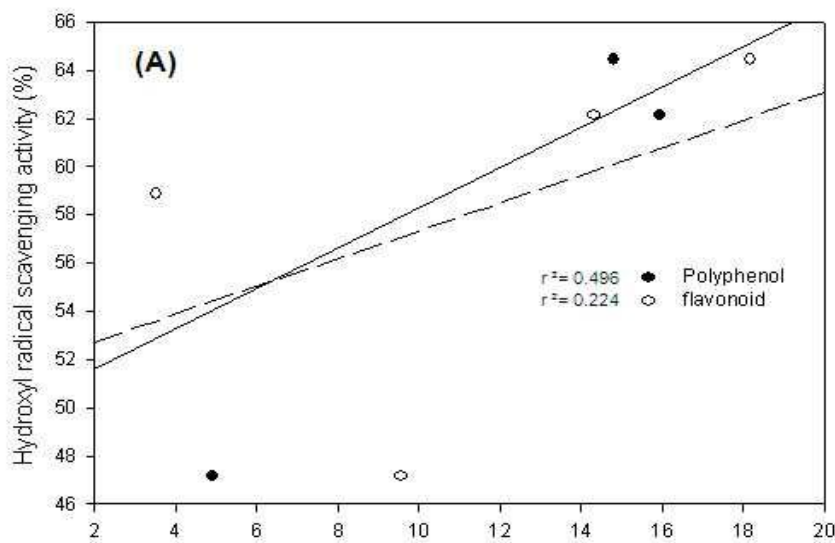
raspberries. J Agri Food Chem 50:2926-30.

- [0104] Mahattanatawee K, Manthey JA, Luzio G, Talcott ST, Goodner K, Baldwin EA. 2006. Total antioxidant activity and content of select Florida-Grown tropical fruits. J Agri Food Chem 54:7355-63.
- [0105] Menon LG, Kuttan R, Kuttan G. 1995. Inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F10 melanoma cells by polyphenolic compounds. Can lett 95:221-5.
- [0106] Meyers KJ, Watkins CB, Pritts MP, Lui RH. 2003. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. J Agri Food Chem 51:6887-92.
- [0107] Mizrahi Y, Nerd A, Nobel PS. 1997. Cacti as Crops. Horti revie 18:291-320.
- [0108] Mokbel MS, Hashinaga F. 2006. Evaluation of the antioxidant activity of extracts from buntan (Citrus grandis Osbeck) fruit tissues. Food Chem 94:529-34.
- [0109] Nanjo F, Goto K, Seto R, Suzuki M, Sakai M, Hara Y. 1996. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Free Radi Bio Med 21:895-902.
- [0110] Nerd A, Sitrita Y, Kaushika RA, Mizrahi Y. 2002. High summer temperatures inhibit flowering in vine pitaya crops (Hylocereus spp). Scientia Horticulturae 96:343-50.
- [0111] Nisizawa K, Noda H, Kikuchi R, Watamaba T. 1987. The main seaweed foods in Japan. Hydrobiologia 151/152:5-29.
- [0112] Rosen GM, Rauckman EJ. 1984. Spin trapping of superoxide and hydroxyl radicals. Meth in Enzymo 105:198-209.
- [0113] Saito K, Kohno M, Yoshizaki F, Niwano Y. 2008. Antioxidant properties of herbal extracts selected from screening for potent scavenging activity against superoxide anions. J Sci Food Agri 88:2707-12.
- [0114] Sanchez-Moreno. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Sci Tech Int 8:121-37.
- [0115] Shahidi F, Wanasundara PK. 1992. Phenolic antioxidants. Crit Rev Food Sci Nutri 32:67-103.
- [0116] Shahidi F. 1997. Natural antioxidants: An overview, In: Shahidi F (ed), Natural antioxidants, chemistry, health effects and applications. IL: Champaign, AOCS press. p 1-11.
- [0117] Singh U, Kunwar A, Srinivasan R, Nanjan MJ, Priyadarsini KI. 2009. Differential free scavenging activity and radioprotection of Caesalpinia digyna extracts and its active constituent. J Radiat Res 50:425-33.
- [0118] Soo-Jin H, Kim JP, Jung WK, Lee NH, Kang HS, Jun EM, Park SH, Kang SM, Lee YJ, Park PJ, Jeon YJ. 2008. Identification of chemical structure and free radical scavenging activity of diphlorethohydroxycarmalol isolated form a brown alga, Ishige okamurae. J Micro Biotech 18:676-81.
- [0119] Stintzing FC, Conrad J, Klaiber I, Beifuss U, Carle R. 2004. Structural investigations on betacyanin pigments by LC NMR and 2D NMR spectroscopy. Phytochemistry 65:415-22.
- [0120] Stintzing FC, Schieber A, Carle R. 2002. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, Hylocereus polyrhizus (Weber) Britton & Rose. Food Chem 77:101-6.
- [0121] Sun J, Chu Y, Wu X, Liu R. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. J Agri Food Chem 50:7449-54.
- [0122] Szentmihályi K, Vinkler P, Lakatos B, Illés V, Then M. 2002. Rose hip (Rosa canina L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods. Bioresou Tech 82:195-201.
- [0123] Tachakittirungrod S, Olonogi S, Chowwanapoonpohn S. 2007. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract, Food Chem 103:381-88.
- [0124] Wolfe K, We X, Liu RH. 2003. Antioxidant activity of apple peels. J Agri Food Chem 51:609-4.

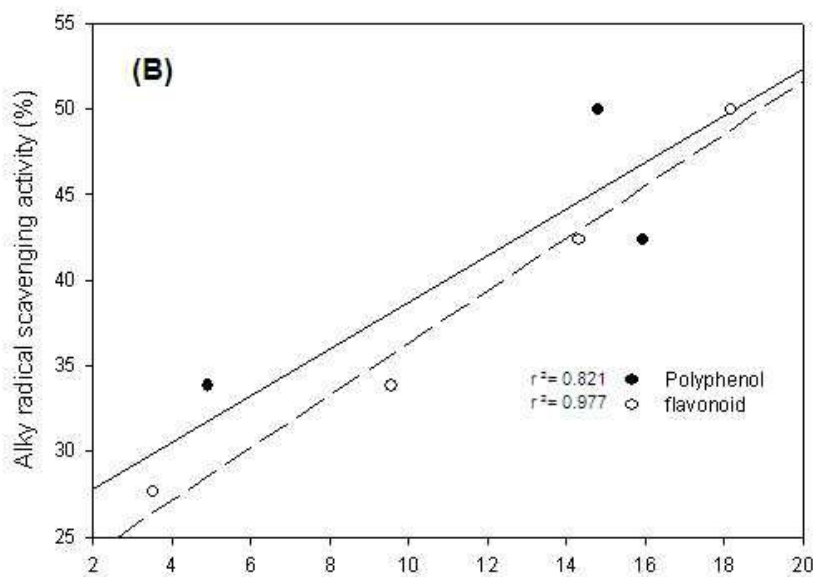
- [0125] Wu L, Hsu HW, Chen YC, Chiu CC, Lin YI, Ho JA. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. Food Chem 95:319-27.
- [0126] Wybranice S, Mizrahi Y. 2002. Fruit flesh betacyanin pigments in hylocereus Cacti. J Agri Food Chem 50:6086-89.
- [0127] Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem 64:555-69.

도면

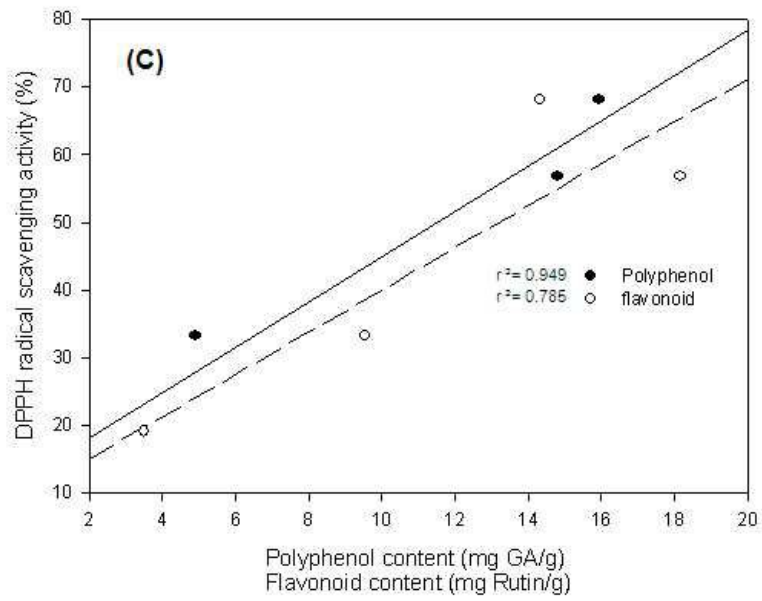
도면1a



도면1b



도면1c



도면2

